

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MADRID

FACULTAD DE MEDICINA

DEPARTAMENTO DE PEDIATRÍA



**MEDICIÓN DE CONCENTRACIONES
PLASMÁTICAS DE ANTIRRETROVIRALES EN
NIÑOS CON INFECCIÓN POR EL VIRUS DE LA
INMUNODEFICIENCIA HUMANA TIPO 1**

TESIS DOCTORAL

Dña. Ana Pilar Nso Roca



**MEDICIÓN DE CONCENTRACIONES
PLASMÁTICAS DE ANTIRRETROVIRALES EN
NIÑOS CON INFECCIÓN POR EL VIRUS DE LA
INMUNODEFICIENCIA HUMANA TIPO 1**

Dña. Ana Pilar Nso Roca

2009

Tesis Doctoral

MEDICIÓN DE CONCENTRACIONES PLASMÁTICAS DE ANTIRRETROVIRALES EN NIÑOS CON INFECCIÓN POR EL VIRUS DE LA INMUNODEFICIENCIA HUMANA TIPO 1

Esta Memoria ha sido presentada para optar al grado de Doctor en Medicina por:

Ana Pilar Nso Roca

Directores de Tesis:

Dra. M^a Isabel de José Gómez

Doctora en Medicina y Cirugía

Adjunta en el Servicio de Enfermedades Infecciosas Pediátricas en el
Hospital Universitario “La Paz” de Madrid

Dra. M^a Ángeles Muñoz-Fernández

Doctora en Ciencias Biológicas y Doctora en Medicina y Cirugía

Adjunta en el Laboratorio de Inmuno-Biología Molecular del Hospital General
Universitario “Gregorio Marañón” de Madrid

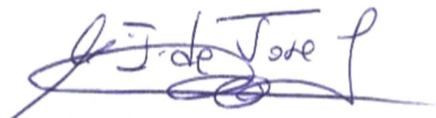
M^a Isabel De José Gómez, adjunta en el Servicio de Enfermedades Infecciosas Pediátricas en el Hospital Universitario “La Paz” y Profesora del Departamento de Pediatría de la Universidad Autónoma de Madrid, y M^a Ángeles Muñoz Fernández, Jefe adjunto del Laboratorio de Inmuno-Biología Molecular del Hospital General Universitario “Gregorio Marañón” y Profesora Honoraria del Departamento de Biología Molecular de la Universidad Autónoma de Madrid, directoras de la Tesis presentada por Doña Ana Pilar Nso Roca.

INFORMAN:

Que Doña Ana Pilar Nso Roca ha realizado bajo su dirección y tutela el trabajo que presenta para optar al grado de Doctor en Medicina titulado “MEDICIÓN DE CONCENTRACIONES PLASMÁTICAS DE ANTIRRETROVIRALES EN NIÑOS CON INFECCIÓN POR EL VIRUS DE LA INMUNODEFICIENCIA HUMANA TIPO 1”, cumpliendo todos los requisitos necesarios para su presentación como Tesis Doctoral.

Este trabajo ha generado varios artículos en revistas nacionales e internacionales y varias comunicaciones a congresos. El trabajo alcanza los objetivos planteados, aporta datos originales y plantea nuevas preguntas en el estudio del manejo de la infección por el VIH en niños. Por todo ello, se considera que el trabajo presentado es merecedor de ser aceptado como trabajo de Tesis Doctoral en el Departamento de Pediatría de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Madrid.

En Madrid, 25 de Mayo de 2009.



M^a Isabel de José Gómez



M^a Ángeles Muñoz Fernández

Este proyecto ha sido financiado por la Fundación para la Investigación y la Prevención del SIDA en España (FIPSE). Se trata de una entidad privada, sin ánimo de lucro, de carácter social y sanitario que se constituye como una entidad financiadora de proyectos de investigación. Sus objetivos son potenciar la investigación española sobre la infección por VIH en todos sus aspectos y reforzar la conexión de la investigación con la política sanitaria.

La financiación para el estudio fue aprobada en 2005, en la VI Convocatoria de Proyectos FIPSE.

A todos los Nkosi Johnson

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, me gustaría expresar mi profundo agradecimiento a mis directoras de tesis, las Doctoras De José y Muñoz Fernández. Gracias Maribel, por creer en mí desde el principio, por cuidar de mí como de una hija y por tu incondicional disponibilidad a lo largo de todo el proceso. La ausencia absoluta de reservas con que me has apoyado ha hecho posible este trabajo. Gracias M^a Ángeles, por confiar en mí para este proyecto y por tu ayuda desinteresada. Los años y esfuerzos que has dedicado para mantener e impulsar la investigación rigurosa en este campo me han inspirado para llevar a cabo el trabajo que aquí presento. Muchas gracias a las dos por vuestro entusiasmo e inmejorable disposición.

Especialmente, me gustaría dar las gracias a Beatriz Larrú. Gracias por contagiarme tus ganas de saber y tu pasión por la investigación. Gracias por estar siempre cerca, sin importar las distancias. Mi deuda personal e intelectual contigo es incalculable.

Gracias a José María por encontrar siempre un momento, por muy difícil que fuera, para dedicarle a este trabajo. Sin tu paciencia y tus acertados consejos en el manejo de la estadística habría sido imposible acabar esta Tesis.

Gracias a todos los integrantes del Laboratorio de Inmunobiología Molecular del Hospital Gregorio Marañón. En especial, a Cristina y a José Luis. Vuestra dedicación y gran ayuda han hecho posible la realización de este trabajo.

Gracias a todos los pediatras que, con tanto cariño, tratan a los niños con infección VIH. Gracias a José Tomas, Pepa, Maribel, Marisa, Milagros, M^a José y Pablo. Gracias por vuestra voluntariedad y cooperación en el desarrollo de este estudio, y por tratarme siempre con tanto afecto. Hago extensivo mi agradecimiento a Carmen, Maite y a todas las enfermeras y auxiliares responsables de las consultas, por acogerme siempre con alegría y cariño. Gracias a Samandhy y Lucía por hacer las cosas más fáciles, a pesar de la distancia. Gracias a Mercedes, Swami, Sagrario y Ana María, por facilitarme el trabajo burocrático tan amablemente.

Gracias a Fernando, por creer en mí y ayudarme siempre y por compartir conmigo los buenos y malos momentos.

Agradecer hoy y siempre a mi familia, por su ánimo y sus consejos. A mis padres, Matías y Pilar. Vuestro sacrificio constante y vuestro espíritu de superación, me inspiran cada día. A mis hermanos, Sara y Matius. Gracias porque, a pesar de la distancia, vuestra alegría y apoyo incondicional me han dado la fortaleza necesaria para seguir adelante.

Gracias a los niños que han participado en este proyecto. Vuestra lucha diaria ha sido mi principal estímulo.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	1
1.1 BIOLOGÍA MOLECULAR DEL VIRUS DE LA INMUNODEFICIENCIA HUMANA.	2
1.1.1 TAXONOMIA.	2
1.1.2 ESTRUCTURA DEL VIH.	3
1.1.3 DINÁMICA VIRAL.....	5
1.2 MECANISMOS DE TRANSMISIÓN.....	8
1.3 HISTORIA NATURAL DE LA ENFERMEDAD	10
1.3.1 PRIMOINFECCIÓN.....	11
1.3.2 FASE INTERMEDIA O CRÓNICA.	13
1.3.3 FASE FINAL O SIDA.....	14
1.4 CLASIFICACIÓN DE LA INFECCIÓN POR VIH Y MANIFESTACIONES CLÍNICAS.	16
1.4.1 CATEGORÍAS INMUNOLÓGICAS.	16
1.4.2 CATEGORÍAS CLÍNICAS.	18
1.4.3 MANIFESTACIONES CLÍNICAS.	20
1.5 DIAGNÓSTICO DE LA INFECCIÓN POR VIH.....	23
1.5.1 DIAGNÓSTICO SEROLÓGICO.....	24
1.6 EPIDEMIOLOGÍA DE LA INFECCIÓN POR VIH.	28
1.7 PREVENCIÓN DE LA INFECCIÓN POR VIH.	31
1.8 APARICIÓN DE RESISTENCIAS.	33
1.8.1 PRUEBAS DE DETECCIÓN DE RESISTENCIAS.	35
1.9 TRATAMIENTO DE LA INFECCIÓN POR VIH.	37
1.9.1 CONCEPTOS DE FARMACOCINÉTICA.....	38
1.9.2 GRUPOS FARMACOLÓGICOS.	42
1.9.3 REGÍMENES DE TRATAMIENTO EN NIÑOS.....	64
1.9.4 CUMPLIMIENTO TERAPÉUTICO O ADHERENCIA.....	70
1.9.5 EFECTOS SECUNDARIOS.	72
1.10 PRONÓSTICO DE LA INFECCIÓN POR VIH.....	74
1.11 MONITORIZACIÓN TERAPÉUTICA DE MEDICAMENTOS.	75
1.12 ANTIRRETROVIRALES COMO FÁRMACOS SUSCEPTIBLES DE MONITORIZACIÓN TERAPÉUTICA	76
1.12.1 DATOS FARMACOCINÉTICOS DISPONIBLES.	76
1.12.2 VARIABILIDAD INTERPACIENTE.....	78
1.12.3 VARIABILIDAD INTRAPACIENTE.....	79
1.12.4 ALTA ASOCIACIÓN ENTRE EL NIVEL EN PLASMA Y LA CONCENTRACIÓN EN EL LUGAR DE ACCIÓN Y RELACIÓN FARMACODINÁMICA ENTRE EL NIVEL PLASMÁTICO Y LA RESPUESTA TERAPÉUTICA.	79

1.12.5 RELACIÓN FARMACODINÁMICA ENTRE EL NIVEL PLASMÁTICO Y LA TOXICIDAD.....	81
1.12.6 MARGEN TERAPÉUTICO ESTRECHO.....	81
1.12.7 EVIDENCIA DE QUE LOS NIVELES PUEDEN MANIPULARSE PARA CONSEGUIR UNOS NIVELES DENTRO DE LA VENTANA TERAPÉUTICA.....	82
1.12.8 EVOLUCIÓN DEL PACIENTE A LARGO PLAZO, COMPROMETIDA POR LA FALTA DE EFECTO.	84
1.12.9 DISPONIBILIDAD DE TÉCNICAS DE MEDICIÓN DE LAS CONCENTRACIONES PLASMÁTICAS.....	84
1.12.10 EXISTENCIA DE UN RANGO TERAPÉUTICO ESTABLECIDO.	87
1.12.11 BUENA RELACIÓN COSTE-BENEFICIO, POSIBILIDAD DE OBTENER UN RESULTADO RÁPIDO, CON POCA MUESTRA.....	88
1.13 INDICACIONES DE MTM.	88
2. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS	91
3. SUJETOS DE ESTUDIO Y MÉTODOS.....	94
3.1 DISEÑO Y ÁMBITO DEL ESTUDIO.....	95
3.1.1 SUJETOS DEL ESTUDIO.....	96
3.1.2 VARIABLES A INCLUIR.....	97
3.1.3 PROTOCOLO DE INCLUSIÓN Y SEGUIMIENTO DE LOS PACIENTES.	100
3.1.4 INFORMACIÓN SOBRE LOS RESULTADOS A LOS FACULTATIVOS RESPONSABLES.	100
3.2 OBTENCIÓN Y PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS.....	101
3.2.1 OBTENCIÓN DE LA MUESTRA.	101
3.2.2 IDENTIFICACIÓN.....	102
3.2.3 PROCESAMIENTO DE LA MUESTRA.....	102
3.3 ANÁLISIS DE LAS MUESTRAS.....	104
3.3.1 DETERMINACIÓN DE LOS NIVELES DE ARV.	104
3.3.2 RANGOS DE REFERENCIA DE CONCENTRACIONES PLASMÁTICAS DE ARV.	106
3.3.3 DETERMINACIÓN DE LA CARGA VIRAL.....	107
3.3.4 DETECCIÓN DE ANTICUERPOS ANTI-VIH.....	107
3.3.5 CUANTIFICACIÓN DE LINFOCITOS T CD4+ Y CD8+.....	107
3.3.6 MEDICIÓN DE RESISTENCIAS GENOTÍPICAS A ANTIRRETROVIRALES... ..	108
3.4 MEDICIÓN DE LA ADHERENCIA.....	109
3.5 ANÁLISIS ESTADÍSTICO.	110
3.5.1 ANÁLISIS DESCRIPTIVO DE LA POBLACIÓN A LA ENTRADA DEL ESTUDIO.....	111
3.5.2 ESTUDIO ANALÍTICO DE LOS DATOS.....	111

3.5.3 TABLAS DE CONTINGENCIA.....	112
3.5.4 ANÁLISIS DE SUPERVIVENCIA.....	112
3.5.5 PRUEBAS PARAMÉTRICAS.....	113
3.5.6 PRUEBAS NO PARAMÉTRICAS.....	114
3.6 LIMITACIONES DEL ESTUDIO.....	115
4. RESULTADOS.....	116
4.1 DESCRIPCIÓN DEMOGRÁFICA, CLÍNICA E INMUNOLÓGICA DE LA COHORTE EN LA QUE SE HA REALIZADO EL ESTUDIO.....	117
4.2 DESCRIPCIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS DEL TRATAMIENTO ANTIRRETROVIRAL QUE RECIBÍAN LOS PACIENTES DE LA COHORTE EN EL MOMENTO DE ENTRADA EN EL ESTUDIO.....	123
4.3 ANÁLISIS DE LAS CONCENTRACIONES PLASMÁTICAS DE ARV, EN EL MOMENTO DE INICIO DEL ESTUDIO.....	126
4.4 ANÁLISIS DE LAS CONCENTRACIONES PLASMÁTICAS DE ANTIRRETROVIRALES A LO LARGO DE LOS 28 MESES DE SEGUIMIENTO.....	129
4.5 ESTUDIO DE LOS CAMBIOS EN EL RÉGIMEN TERAPÉUTICO DE LOS PACIENTES A LO LARGO DEL SEGUIMIENTO Y ANÁLISIS DE LA RELACIÓN CON LAS CONCENTRACIONES PLASMÁTICAS DE ARV.....	141
4.6 ANÁLISIS DE LA EVOLUCIÓN DE PARÁMETROS CLÍNICOS Y ANALÍTICOS A LO LARGO DE LOS 28 MESES DE SEGUIMIENTO Y DE SU RELACIÓN CON LAS CONCENTRACIONES PLASMÁTICAS DE ARV.....	144
4.6.1 NIVELES PLASMÁTICOS DE ARV Y PERFIL LIPÍDICO.....	144
4.6.2 NIVELES PLASMÁTICOS DE ARV Y PARÁMETROS DE FUNCIÓN HEPÁTICA.....	150
4.6.3 NIVELES PLASMÁTICOS DE ATV Y BILIRRUBINA TOTAL Y GLUCEMIA. ...	154
4.6.4 NIVELES PLASMÁTICOS DE ARV Y ESTADO NUTRICIONAL.....	155
4.7 ANÁLISIS DE LA EVOLUCIÓN DE LOS PARÁMETROS DE ACTIVIDAD VIRAL E INMUNOLÓGICA EN EL MOMENTO BASAL Y A LO LARGO DE LOS 28 MESES DE SEGUIMIENTO.....	157
4.7.1 COMPARACIÓN DE LA DIFERENTE EVOLUCIÓN DE LOS PARÁMETROS DE ACTIVIDAD VIRAL E INMUNOLÓGICA, EN FUNCIÓN DE LA CONCENTRACIÓN PLASMÁTICA DE ARV.....	161
4.8 ANÁLISIS DE LA INFLUENCIA DE LA EDAD EN LAS VARIABLES ANALIZADAS EN LA COHORTE Y EN LAS CONCENTRACIONES PLASMÁTICAS DE ANTIRRETROVIRALES.....	168
4.9 ANÁLISIS DE LA INFLUENCIA DEL GÉNERO Y EL DESARROLLO PUBERAL EN LAS DISTINTAS CARACTERÍSTICAS BASALES DE LA COHORTE Y EN LAS CONCENTRACIONES PLASMÁTICAS DE ANTIRRETROVIRALES.....	170

4.10 ANÁLISIS DE LA INFLUENCIA DEL CUMPLIMIENTO TERAPÉUTICO Y LAS RESISTENCIAS EN LAS CONCENTRACIONES PLASMÁTICAS DE ANTIRRETROVIRALES.	174
4.10.1 COMPARACIÓN DE LA DIFERENTE EVOLUCIÓN DE LAS CONCENTRACIONES PLASMÁTICAS DE ARV, SEGÚN EL GRADO DE ADHERENCIA AL TRATAMIENTO.....	174
4.10.2 COMPARACIÓN DE LAS CONCENTRACIONES PLASMÁTICAS DE ANTIRRETROVIRALES, SEGÚN LA PRESENCIA DE RESISTENCIAS GENOTÍPICAS.	177
4.11 FACTORES PRONÓSTICOS DE FALLO VIRAL EN LA COHORTE DE NIÑOS EN LA QUE SE HAN MEDIDOS NIVELES PLASMÁTICOS DE ANTIRRETROVIRALES.	180
4.12 VALORACIÓN DE LA UTILIDAD DE LA DETERMINACIÓN DE CONCENTRACIONES PLASMÁTICAS DE ANTIRRETROVIRALES, POR PARTE DE LOS FACULTATIVOS RESPONSABLES DE LOS PACIENTES.	183
5. DISCUSIÓN	187
6. CONCLUSIONES	224
7. BIBLIOGRAFÍA	228
8. ANEXOS.....	254
9. ARTÍCULOS PUBLICADOS Y COMUNICACIONES.....	264

1. INTRODUCCIÓN

1.1 BIOLOGÍA MOLECULAR DEL VIRUS DE LA INMUNODEFICIENCIA HUMANA.

En 1981, se detectó en Nueva York y San Francisco un brote epidémico de una nueva infección¹ producida por un virus desconocido hasta 1983, año en que se logró su aislamiento²⁻⁴. Se trataba de un nuevo retrovirus humano, no oncogénico. En los años 1983 y 1984, investigadores del Instituto Pasteur, del Instituto Nacional del Cáncer de EE.UU. y de la Universidad de California aislaron varias cepas de retrovirus en pacientes con SIDA y las denominaron LAV (virus asociado a linfadenopatía), HTLV-III (virus linfotrópico T humano tipo III) y ARV, respectivamente. Posteriormente, un comité internacional de taxonomía acuñó la denominación virus de la inmunodeficiencia humana tipo 1 (VIH-1).

Un segundo retrovirus, similar pero antigénicamente distinto fue aislado en pacientes con SIDA en África occidental en 1986 y fue identificado como VIH-2. Era también capaz de producir en el hombre un cuadro clínico similar al del SIDA, pero su distribución geográfica era más limitada y era menos patogénico que el VIH-1⁴.

1.1.1 TAXONOMIA.

El VIH-1 es un virus ARN perteneciente a la familia *Retroviridae*, subfamilia *Lentivirinae*, que es capaz de integrarse en el genoma de la célula huésped, fase necesaria para su posterior transcripción y formación de los nuevos viriones. Se diferencia del resto de retrovirus humanos (virus oncógenos) por su marcado poder citolítico³, por su largo periodo de latencia antes de las manifestaciones clínicas de la enfermedad y por la complejidad de su estructura genómica⁵.

Como resultado de la alta variabilidad genética, el VIH-1 se ha clasificado en 3 grandes grupos llamados M (*major*), O (*outlier*) y N (*non-M, non-O*). El grupo M ha sido subdividido en varios subtipos denominados con letras (A, B, C, D, E, F, G, H,

J, K), según las secuencias *env*, *gag* y *pol* y cuatro formas recombinantes (CRF01-AE, CRF02-AG, CRF03-AB y CRF04-cpx)⁶.

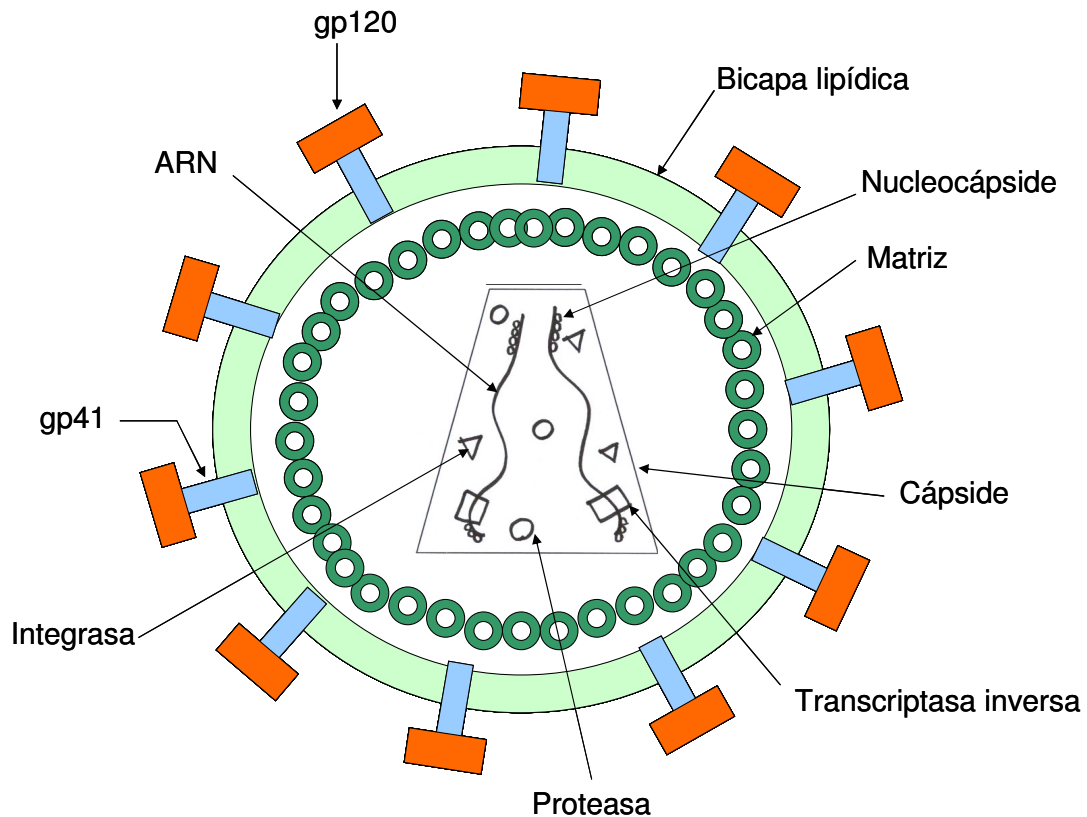
Los grupos O y N del VIH-1 presentan baja prevalencia, siendo mayoritariamente encontrados en África Central. La mayoría de las cepas que circulan en España, al igual que en el resto del mundo, pertenecen al grupo M del VIH-1⁷. El subtipo B del VIH-1 predomina en América, Europa, Oriente Medio y Asia oriental. Los subtipos no-B se encuentran mayoritariamente en África⁸.

La secuencia genética de los virus VIH-1 de un mismo subtipo (con cerca de 9.800 nucleótidos en cada cadena de ARN viral) es variable. Incluso las cepas que infectan a un mismo individuo no son idénticas entre sí. La homología genética entre virus del VIH-1 y VIH-2 es del 50%. El VIH-2 es más cercano filogenéticamente al virus de la inmunodeficiencia del simio que al VIH-1⁷.

1.1.2 ESTRUCTURA DEL VIH.

Se trata de un virus de estructura esférica, de 100nm de diámetro aproximadamente. Posee una envoltura y un núcleo central (Figura 1).

La envoltura está compuesta por una doble capa lipídica enriquecida en colesterol y esfingomielina y 72 espículas formadas por glucoproteínas. Existen numerosas proteínas derivadas de la membrana plasmática de las células infectadas y glucoproteínas de codificación viral, dos de ellas son las denominadas gp120 y gp41.

Figura 1. Representación estructural del virus de la inmunodeficiencia humana.

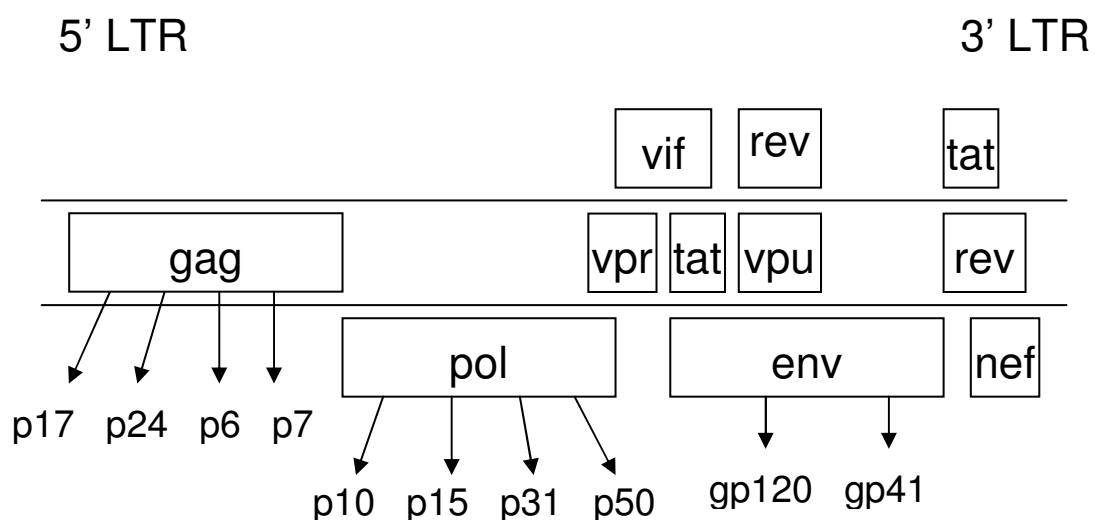
El núcleo es electrón-denso y contiene el ARN viral. El genoma viral está constituido por dos copias de ARN monocatenario, unidas como un dímero y contiene nueve genes (Figura 2).

Tres de ellos, los genes *gag*, *pol* y *env*, codifican las principales proteínas estructurales virales. *Gag* se expresa como un precursor proteico de 55KDa (p55) que se divide en distintos polipéptidos durante la maduración viral: cápside (p24), nucleocápside (p6 y p7) y matriz (p17), que está situada bajo la envoltura, a la que estabiliza. *Pol* (p160) codifica proteínas con actividad enzimática, situadas dentro de la cápside: proteasa (p10), transcriptasa inversa (p50), ARNasa (p15) e integrasa (p31). *Env* (gp160) codifica las glucoproteínas de la envoltura, que son divididas por enzimas celulares en la glucoproteína de superficie gp120 y la

glucoproteína transmembrana gp41, que migran y se incorporan a la membrana plasmática.

Los seis genes restantes son no estructurales: *Tat* y *rev* codifican para proteínas reguladoras y *vpu*, *vpr*, *vif* y *nef* codifican para proteínas accesorias. La proteína Tat (p14) actúa como transactivador, favoreciendo la transcripción del ADN proviral. Rev (p19) controla el ritmo de exportación del ARNm del núcleo al citoplasma. Vpu (p16) degrada la proteína CD4 y facilita el desprendimiento de los viriones en las células infectadas. Vpr (p15) está implicada en el transporte del complejo de preintegración al núcleo. Vif (p23) protege el genoma viral y está implicada en la infecciosidad de los viriones extracelulares. Nef (p27) interfiere en la activación de linfocitos T y en la regulación negativa de la presencia de CD4 y CMH-I en la membrana celular.

Figura 2. Esquema de la estructura genética del VIH.



1.1.3 DINÁMICA VIRAL.

El VIH invade linfocitos T CD4+ y también células de la serie monocítica-macrofágica, células dendríticas, células de Langerhans y de la microglía del

cerebro. Los órganos linfoides son los principales lugares de la replicación pero el virus también está presente en líquidos del organismo, principalmente en la sangre y las secreciones genitales. Cuando la mucosa actúa como puerta de entrada, las células dendríticas recogen y procesan los antígenos introducidos desde la periferia y los transportan al tejido linfóide. Una vez en el ganglio linfático, el VIH se une selectivamente a las células que expresan moléculas CD4 en su superficie.

Fijación.

El mayor receptor viral en el organismo es la molécula CD4. Esta molécula se expresa en un subtipo de células T y en la serie microcítica-macrofágica. Otras células portadoras de CD4, como las de la microglía, los astrocitos y las de la oligodendroglía y el tejido placentario, también pueden ser infectadas por el VIH.

La interacción entre la molécula CD4 y la gp120 constituye el mayor mecanismo mediante el cual los viriones se unen a la superficie celular⁴. Esta interacción entre ambas moléculas induce cambios conformacionales en la proteína viral (gp120) que le permiten unirse a moléculas adicionales de la superficie celular que actúan como co-receptores. Numerosos receptores de quimiocinas pueden actuar como co-receptores, siendo CCR5 (en macrófagos) y CXCR4 (en linfocitos T) los más comunes⁴.

Entrada del virus.

La unión de gp120 con los co-receptores produce nuevos cambios conformacionales en la pequeña glucoproteína gp41, favoreciendo la fusión de la envoltura viral y la membrana celular. Esta fusión conduce a la entrada del núcleo viral en la célula huésped.

Eventos virales en la preintegración.

Una vez dentro del citoplasma, la ordenada estructura del núcleo del VIH se pierde y, en su lugar, se forma una gran estructura aparentemente amorfa. La transcripción inversa implica la transformación del ARN viral en una doble cadena

de ADN complementario. Esta síntesis de ADN se lleva a cabo por la acción de la transcriptasa inversa, sin intervención de enzimas de la célula huésped.

La síntesis del ADN viral comienza a las pocas horas de la entrada en la célula y se completa en 4-6 horas⁴.

Una característica importante de la transcripción inversa es su tendencia a los errores, debido a que carece de mecanismos para la corrección de fallos en la incorporación de nucleótidos⁹. Esto, combinado con el hecho de que el ciclo vital del VIH puede completarse en menos de 24 horas, hace posible que los individuos infectados alberguen variantes con mutaciones en la posición de los nucleótidos del genoma. Bajo la presión selectiva de la respuesta inmune del huésped y los agentes antivirales, los mutantes pueden emerger de forma rápida⁴.

Integración.

El ADN viral se integra en el genoma de la célula huésped mediante la intervención de la integrasa. Se produce una unión covalente entre los nucleótidos virales y los de la célula huésped. Este paso es esencial para la replicación del retrovirus. El ADN viral integrado se conoce como provirus y el genoma viral persiste como un componente del genoma celular durante el resto de la vida de la célula ya que los retrovirus no tienen la capacidad de escindir su genoma del ADN cromosómico.

Eventos posteriores a la integración.

Tras la integración, el provirus VIH puede iniciar la actividad transcripcional o permanecer silente durante largos periodos de tiempo. El virus puede permanecer latente como provirus incompleto, provirus sin integrar o provirus integrado pero latente⁵.

Cuando se activa la transcripción viral, se forman cadenas de ARNm que se traducen en los ribosomas citoplasmáticos, formándose las proteínas que constituirán los futuros viriones que se separan de la célula por gemación, momento

en el que adquiereN porciones de membrana plasmática que contienen gp41 y gp120. Tras este proceso, se produce en la célula diana un efecto citopático³.

Las células pueden ser destruidas por múltiples mecanismos: destrucción por el VIH, formación de células gigantes multinucleadas, formación de sincitios, respuestas inmunitarias específicas virales, activación de células T mediadas por superantígenos y muerte celular programada (apoptosis).

La capacidad del VIH para multiplicarse en las células T es mayor si éstas están en estado de activación. La activación inmunitaria que tiene lugar en la enfermedad por VIH, por tanto, favorece la infección de nuevas células CD4, así como la subsiguiente replicación vírica dentro de las células⁹.

1.2 MECANISMOS DE TRANSMISIÓN.

La transmisión del VIH se produce por contacto sexual, exposición parenteral a la sangre o transmisión vertical de madre a hijo.

En los últimos años ha habido un cambio en la vía predominante de transmisión, con una disminución de los contagios por uso de drogas vía parenteral y un aumento de los casos infectados por vía heterosexual. En Europa occidental, la infección por el VIH transmitida a través de las relaciones heterosexuales se ha más que duplicado entre 1997 y 2002¹⁰.

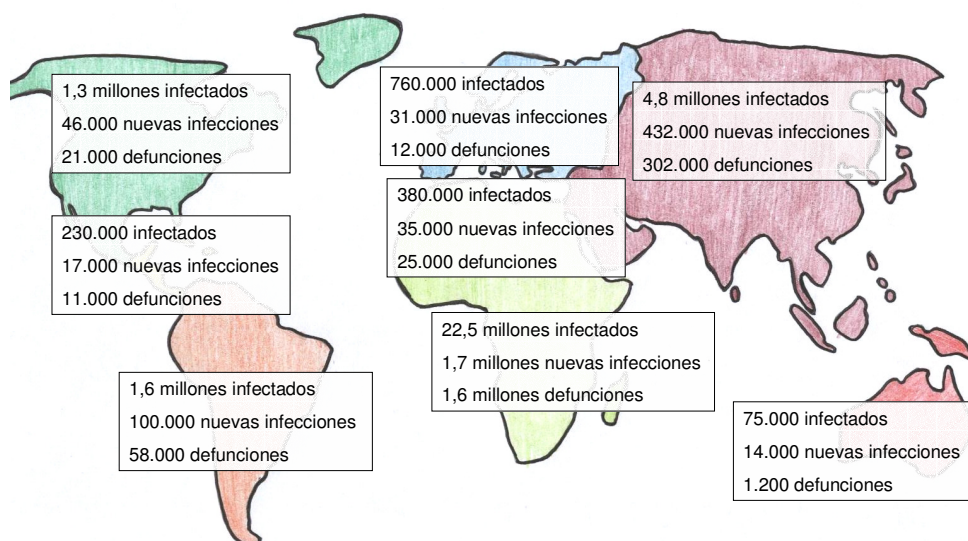
Por otro lado, las mujeres son físicamente más vulnerables a la infección por el VIH que los varones. El número de mujeres que viven con el VIH ha aumentado en todas las regiones del mundo en los últimos dos años, hasta el punto de que, en la actualidad, constituyen, en muchas regiones, más de la mitad de los adultos infectados por el VIH^{10, 11}. África meridional sigue siendo la región más castigada, con tasas de prevalencia del VIH superiores al 25%. En Botswana, Lesotho y Swazilandia, esas tasas se mantienen por encima del 30% entre las mujeres

embarazadas. En la Figura 3, se detalla la prevalencia de la infección por VIH en las distintas regiones del mundo, según el último informe conjunto de las Naciones Unidas y la Organización Mundial de la Salud¹¹.

La ruta primaria de infección en la población pediátrica es la vertical, responsable de casi todos los casos nuevos. Si bien la transmisión materno-infantil ha sido prácticamente eliminada de los países industrializados y la cobertura de los servicios materno-infantiles está mejorando en muchos otros lugares, esos servicios siguen siendo muy insuficientes en la mayor parte del África subsahariana. La tasa de transmisión al hijo, en madres no tratadas, es del 12-30%⁹.

El contagio madre-hijo puede ocurrir en diferentes momentos. Antes del parto (intraútero), el virus se transmite por vía transplacentaria, ocurre aproximadamente en el 30-40% de los casos. Durante el parto (60-70% de los casos), por exposición del niño a las secreciones cervico-vaginales de la madre, donde el virus se encuentra a títulos altos durante la gestación tardía y el parto. Después del parto, a través de la leche materna, en la que se ha aislado el virus, es una vía poco común en países desarrollados pero es decisiva en países en desarrollo.

Figura 3. Representación de la prevalencia de la infección por VIH en las distintas regiones del mundo.



Varios factores de riesgo influyen en la frecuencia de la transmisión vertical. El parto prematuro, un recuento bajo de linfocitos T CD4+ maternos y el uso de drogas vía parenteral durante el embarazo, son algunos de ellos.

Las transfusiones de sangre o los productos hematológicos infectados han sido responsables del 3-6% de todos los casos pediátricos de SIDA⁹, sobre todo hasta el año 1985, ya que no se disponía de productos hematológicos sometidos a detección de anticuerpos anti-VIH. El cribado de los donantes de sangre ha reducido mucho el riesgo de infección relacionada con las transfusiones, siendo la tasa de transmisión del VIH a través de sangre sometida a detección de anticuerpos, de 1 por cada 60.000 unidades transfundidas, en Estados Unidos⁹.

En la edad pediátrica, la transmisión sexual es poco frecuente, sin embargo, es una ruta fundamental en la población adolescente.

1.3 HISTORIA NATURAL DE LA ENFERMEDAD

Datos recientes apoyan la hipótesis de que el VIH-1 prolifera de forma continua desde el momento en que infecta a un paciente, aunque a velocidades diferentes según el estadio evolutivo de la infección³. A las 3-6 semanas del contagio, se produce un estallido de la viremia y en los 2-4 meses siguientes, se establece una respuesta inmunitaria celular y humoral con lo que la carga viral en sangre disminuye de forma sustancial.

De manera que se pueden distinguir varias fases (Figura 4). Una fase precoz o aguda, de varias semanas de duración, una fase intermedia o crónica, con replicación vírica activa y latencia clínica, de varios años de duración y una fase final o de crisis que clínicamente correspondería a lo que se denomina Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA), en el que el paciente desarrolla infecciones

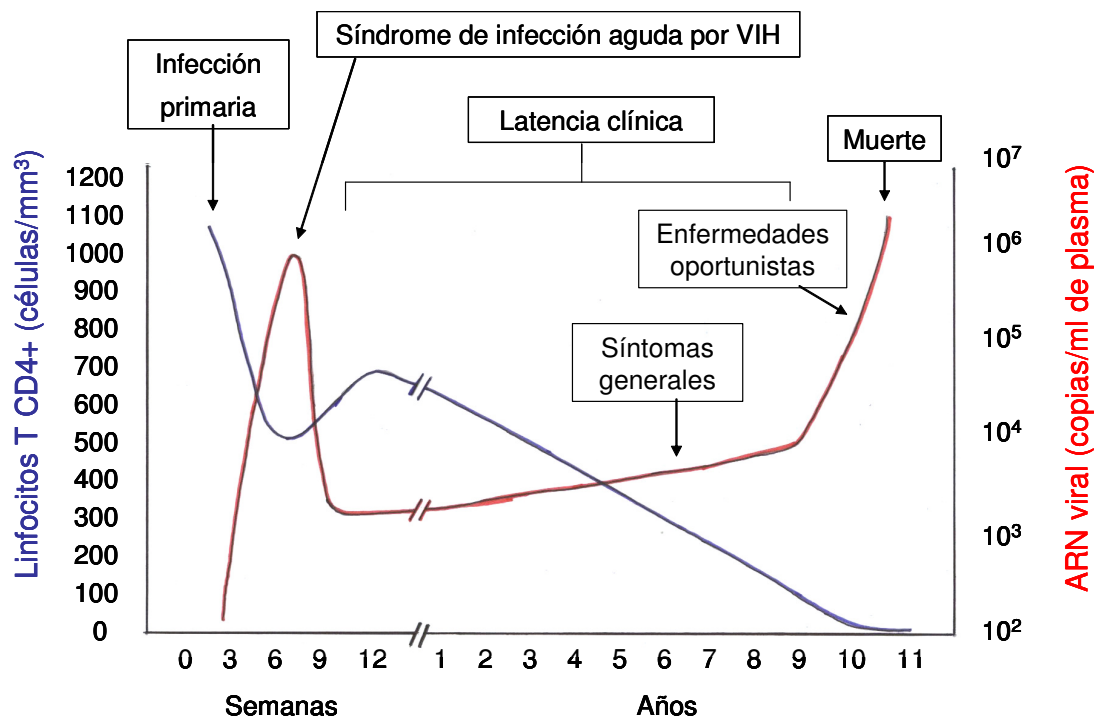
oportunistas o determinados tipos de neoplasias como consecuencia de una profunda inmunosupresión (predominantemente de la inmunidad celular)³.

1.3.1 PRIMOINFECCIÓN.

Durante este periodo, el virus invade un gran número de células T CD4+ y se replica rápidamente. En las 2-4 primeras semanas tras la exposición, el paciente infectado puede permanecer asintomático o presentar un cuadro sintomático transitorio (Figura 4).

Los síntomas aparecen días (en general menos de 2 semanas) o hasta 10 semanas después del contagio y pueden detectarse en el 40-90% de los pacientes, aunque con frecuencia estas manifestaciones pasan inadvertidas o pueden confundirse con otros procesos banales.

Figura 4. Representación de las distintas fases de la infección por el VIH.



Las manifestaciones clínicas iniciales son compatibles con un síndrome mononucleósico y duran de una a tres semanas. En ocasiones, se acompañan de una meningoencefalitis aguda y, excepcionalmente, como consecuencia de las alteraciones transitorias de la inmunidad celular que se observan en este período de tiempo, pueden aparecer algunas infecciones oportunistas (candidiasis orofaríngea o esofágica y, excepcionalmente, infecciones por micobacterias o *Pneumocystis jiroveci*).

La severidad de los síntomas durante la primoinfección se asocia con el ritmo posterior de progresión de la enfermedad¹².

La dinámica de la infección por VIH en niños infectados por vía vertical, es diferente a la de los adultos. Los niños, a menudo, experimentan un brote viral inicial y, posteriormente, un descenso lento de la carga viral^{13, 14}. A partir de los primeros días de la infección, el VIH-1 invade el tejido linfático, donde alcanza concentraciones muy elevadas. Durante la primoinfección, se pueden alcanzar niveles muy altos de viriones circulantes en el plasma, cuya presencia puede demostrarse a través de la detección de antígeno p24 (proteína mayor de la cápside vírica) o de la cuantificación de copias de ARN-VIH-1 (carga viral) a las 2-6 semanas.

Generalmente, desde la penetración del VIH en el organismo hasta la aparición de anticuerpos anti-VIH, transcurren varias semanas en las que el sujeto está infectado y tiene capacidad de transmitir el virus aunque todavía no se detecten los anticuerpos en sangre. Este período se denomina período ventana. Dicho periodo es variable y puede prolongarse durante varios meses, aunque lo habitual es que los anticuerpos se desarrollen entre 1-3 meses después de la infección. Esta aparición de anticuerpos coincidirá con la desaparición del antígeno p24 y una drástica reducción del nivel de virus circulante.

En los niños, la replicación temprana del VIH-1 no parece tener manifestaciones clínicas. Tras la transmisión vertical, la carga viral aumenta entre el primer y el cuarto mes y casi todos los lactantes infectados por el virus presentan VIH-1 detectable en sangre a los cuatro meses de edad.

Los niños infectados por el VIH experimentan cambios en el sistema inmunitario similares a los observados en los adultos. La depleción de células T CD4+ puede ser menos dramática debido a que los lactantes suelen tener una linfocitosis reactiva.

En los niños infectados por vía vertical, el mayor descenso de linfocitos T CD4+ ocurre en el primer año de vida, disminuyendo posteriormente de manera gradual hasta los 6-8 años. La carga viral, en ausencia de tratamiento, suele ser baja al nacimiento (menos de 10.000 copias/ml), aumenta a los 2 meses de edad (pudiendo alcanzar hasta 10 millones de copias/ml) y, posteriormente, disminuye de forma lenta¹⁵.

1.3.2 FASE INTERMEDIA O CRÓNICA.

Tras la infección aguda, el recuento de linfocitos T CD4+ y la carga viral se estabilizan y la infección se cronifica.

En esta fase, que generalmente dura varios años, persiste la actividad proliferativa vírica. El largo periodo de latencia clínica, por tanto, no es indicador de latencia vírica. De hecho, existe una renovación muy alta de virus y linfocitos T CD4+ que causa un deterioro gradual del sistema inmunitario, puesto en evidencia sobre todo, por depleción de células CD4+.

En casi todos los pacientes es posible cultivar el VIH-1 tanto en el plasma como en las células mononucleares si se utilizan técnicas suficientemente sensibles y se puede detectar y cuantificar la concentración de ARN vírico (carga viral). En plasma, se alcanza un nivel de equilibrio que depende de la tasa de producción

vírica (en el tejido linfático) y de la tasa de destrucción. Este nivel de equilibrio tiene valor pronóstico, es estable durante períodos limitados de tiempo y es muy variable de un individuo a otro.

Los pacientes suelen estar asintomáticos, con o sin adenopatías, y pueden presentar trombocitopenia o trastornos neurológicos centrales o periféricos. La probabilidad de que la infección, dejada a su evolución natural, progrese hacia estadios más avanzados se aproxima al 50-80% a los 10 años de producida el contagio³.

Existen, no obstante, grandes variaciones individuales. La viremia plasmática y la cifra de linfocitos T CD4+ son los mejores marcadores pronósticos de progresión clínica y mortalidad, si no se efectúan intervenciones terapéuticas.

1.3.3 FASE FINAL O SIDA.

Esta fase está caracterizada por un incremento de la actividad replicativa del virus. El VIH destruye la funcionalidad de las células del sistema inmunitario y la enfermedad se desarrolla al encontrarse el sistema inmunitario seriamente comprometido.

Clínicamente, aparece una intensa alteración del estado general (*wasting syndrome*), con desarrollo de infecciones oportunistas, de ciertos tipos de neoplasias y de trastornos neurológicos.

A partir de este momento, se considera que el paciente padece SIDA. El Centro para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC) define SIDA en adultos y adolescentes mayores de 13 años como la presencia de alguna de las 26 condiciones indicativas de inmunosupresión grave asociada a la infección por VIH¹⁶. La mayoría de ellas son infecciones oportunistas que rara vez afectan a individuos sanos. La definición en niños menores de 13 años es similar, pero con la adición de

infecciones comunes en pacientes pediátricos con VIH. El diagnóstico de SIDA incluye, además, un recuento de linfocitos T CD4+ inferior a 200/ μ L¹².

La peculiar alteración inmunitaria de los pacientes con SIDA condiciona la etiología y las características de las infecciones oportunistas que presentan. La frecuencia relativa de cada una de estas infecciones traduce, a su vez, las peculiaridades del área geográfica donde el paciente vive, o donde haya vivido o viajado y del grupo de riesgo al que pertenezca. Asimismo, su orden de aparición dependerá del grado de deterioro inmunológico.

La infección por el VIH-1 también provoca una alteración de la inmunidad humoral, que explica la frecuencia relativamente alta y la gravedad de las infecciones producidas por bacterias encapsuladas (*Streptococcus pneumoniae* y *Haemophilus influenzae*, entre otras).

Como la infección por el VIH-1 origina, fundamentalmente, una inmunodepresión celular por reducción de linfocitos CD4+, la mayoría de las infecciones oportunistas se deben a la reactivación de una infección latente adquirida años antes. Pueden estar producidas por microorganismos intracelulares como *Mycobacterium tuberculosis*, *Toxoplasma gondii*, *Pneumocystis jiroveci* y virus del grupo herpes, entre otros.

Otra fuente de infecciones oportunistas son las infecciones exógenas. Estos pacientes pueden adquirir infecciones *de novo* por los mismos mecanismos que un huésped inmunocompetente. Se adquieren, por ejemplo, por vía digestiva las infecciones por *Isospora belli* y *Cryptosporidium*, y por vía respiratoria la criptococosis.

También es posible la aparición de infecciones secundarias a la proliferación de microorganismos saprofitos de la piel y las mucosas. La candidiasis oral, esofágica y vaginal es el exponente más característico de este mecanismo. La mayoría de estas infecciones aparecen por debajo de los 200 linfocitos CD4+/ μ L, cifra que se

utiliza para iniciar la profilaxis primaria de las mismas. La respuesta al tratamiento de la fase aguda de estas infecciones suele ser buena en la mayoría de los casos. Sin embargo, la tasa de recidivas es muy alta, lo que obligará a efectuar un tratamiento de mantenimiento de por vida.

La infección progresa más rápido en niños que en adultos y algunos niños sin tratamiento fallecen en los dos primeros años de vida. Esta progresión rápida guarda relación con una carga viral más alta y con una depleción de linfocitos CD4+ infectados más rápida en los lactantes y niños que en los adultos⁹.

1.4 CLASIFICACIÓN DE LA INFECCIÓN POR VIH Y MANIFESTACIONES CLÍNICAS.

El CDC estableció una clasificación de los pacientes infectados por VIH en distintas categorías clínicas según la cifra de linfocitos CD4+ y según la sintomatología clínica¹⁷. De manera que se consideran afectos de SIDA los pacientes incluidos en las categorías C1, C2, C3, A3 y B3. Si existen discrepancias entre recuento y porcentaje de CD4, la enfermedad se clasifica en la categoría más grave.

1.4.1 CATEGORÍAS INMUNOLÓGICAS.

Utilizan la cifra o el porcentaje de linfocitos T CD4+. Este método es más complicado de utilizar para clasificar el grado de inmunosupresión en niños, ya que el recuento de linfocitos CD4+ varía con la edad, de manera que los niños presentan cifras de CD4 mayores que los adultos. Por otro lado, los niños pueden desarrollar infecciones oportunistas con niveles de CD4 mayores que los adultos. Por este motivo, el CDC ha establecido una clasificación inmunológica específica para niños, según el grupo de edad al que pertenezcan¹⁷ (Tabla 1).

Tabla 1. Categorías inmunológicas de la infección por VIH, basadas en el recuento de linfocitos CD4 según la edad. Clasificación establecida por el CDC¹⁷.

Categoría inmunológica	Edad		
	< 1 año	1-5 años	6-12 años
	Linfocitos T CD4+ /μL (%)		
1: No inmunosupresión	≥ 1500 (≥ 25%)	≥ 1000 (≥ 25%)	≥ 500 (≥ 25%)
2: Inmunosupresión moderada	750-1499 (15-24%)	500-999 (15-24%)	200-499 (15-24%)
3: Inmunosupresión grave	< 750 (< 15%)	< 500 (< 15%)	< 200 (< 15%)

El riesgo de progresión de la enfermedad o de muerte a las diferentes edades depende, principalmente, del número de linfocitos T CD4+. Existen programas informáticos que estiman este riesgo en función de la edad, el número de CD4 y la carga viral¹⁸.

Los niños infectados verticalmente tienen cargas virales más elevadas que los adultos, sobre todo en los primeros años de la vida, como reflejo de la inmadurez inmunológica para contener la replicación viral^{19, 20}. La carga viral y los linfocitos T CD4+ son marcadores de progresión de la infección, pero el porcentaje de linfocitos CD4 se utiliza preferentemente frente a su valor absoluto porque varía menos con la edad.

El mayor descenso de la cifra de linfocitos T CD4+ en niños es resultado de la combinación de la progresión de la infección por VIH y del descenso natural de estos linfocitos con la edad. En la historia natural de la enfermedad, el mayor descenso de linfocitos T CD4+ ocurre en el primer año de vida, (aproximadamente 250 células/μl), disminuyendo posteriormente de manera gradual hasta los 6-8

años. A partir de esta edad se experimenta un descenso aproximado de unas 73 células/ μ l/año²¹, similar al de los adultos asintomáticos²⁰.

Otras células que tienen un papel importante en la contención del virus en las fases primaria y crónica, son los linfocitos T CD8+^{22, 23}. Ha sido difícil establecer la relación entre la respuesta de células CD8+ y el desenlace clínico o virológico²⁴. Algunos estudios han encontrado una relación inversa entre el número de CD8 circulantes y la carga viral, sugiriendo un control inmune del virus²⁵. La histolisis específica del VIH, mediada por linfocitos T CD8+, ha sido detectada en niños, aunque más débil que en adultos y de forma ocasional en menores de 6 meses de edad^{26, 27}. Aparentemente, para que exista una respuesta de células CD8, es necesaria una edad superior a los 3 años y un número de CD4 adecuado. Cuando no se dan estas condiciones, la respuesta de CD8 es pobre y aumenta la carga viral²⁸.

1.4.2 CATEGORÍAS CLÍNICAS.

Se trata de una clasificación en función de los signos, síntomas o infecciones relacionadas con el VIH¹⁷. Las distintas categorías son excluyentes entre sí.

- Categoría N. Sin signos o síntomas considerados relacionados con la infección VIH o que presentan sólo uno de los síntomas de la categoría A.
- Categoría A. Se aplica a la infección primaria. En esta categoría se incluyen los niños con dos o más síntomas de los indicados, pero que no cumplen criterios de categoría B o C:
 - Linfadenopatía, mayor o igual de 0,5 cm en más de dos localizaciones.
 - Hepatomegalia.
 - Esplenomegalia.
 - Dermatitis.
 - Parotiditis.

- Infección de vías respiratorias altas, sinusitis u otitis media recurrentes o persistentes.
- Categoría B. Se aplica a pacientes que han presentado síntomas relacionados con la infección por el VIH pero que no se encuadran en las categorías A o C.
- Categoría C. Se aplica a los pacientes que han presentado alguno de los 26 cuadros clínicos diagnósticos de SIDA, sin incluir la neumonía intersticial linfoide (siempre que exista seropositividad VIH demostrada):
 - Candidiasis traqueal, bronquial o pulmonar.
 - Candidiasis esofágica.
 - Coccidioidomicosis generalizada.
 - Criptococosis extrapulmonar.
 - Criptosporidiasis con diarrea de más de 1 mes.
 - Infección por citomegalovirus de un órgano diferente al hígado, bazo o ganglios linfáticos, con inicio de los síntomas a partir del mes de vida.
 - Retinitis por citomegalovirus.
 - Encefalopatía por VIH.
 - Infección por el virus del herpes simple que cause úlcera mucocutánea de más de 1 mes de evolución o bronquitis, neumonitis o esofagitis.
 - Histoplasmosis diseminada.
 - Isosporidiasis crónica.
 - Sarcoma de Kaposi.
 - Linfoma de Burkitt o equivalente.
 - Linfoma inmunoblástico o equivalente.
 - Linfoma cerebral primario.
 - Infección por *Mycobacterium avium* o *Mycobacterium kansasii* diseminada o extrapulmonar.
 - Tuberculosis extrapulmonar o diseminada.

- Infección por otras micobacterias, diseminada o extrapulmonar.
- Neumonía por *P jiroveci*.
- Leucoencefalopatía multifocal progresiva.
- Sepsis recurrente por especies de *Salmonella* que no sean *S typhi*.
- Toxoplasmosis cerebral.
- *Wasting syndrome* (síndrome de emaciación).
- Carcinoma de cérvix invasivo.
- Tuberculosis pulmonar.
- Neumonía recurrente.

1.4.3 MANIFESTACIONES CLÍNICAS.

Las manifestaciones clínicas varían mucho entre los lactantes, los niños y los adolescentes. En la mayoría de los lactantes, la exploración física es normal al nacer. Los síntomas iniciales pueden ser sutiles, como linfadenopatía y hepatoesplenomegalia o inespecíficos, como estancamiento ponderoestatural, diarrea crónica o recurrente, neumonía intersticial o candidiasis oral y quizá sólo se distingan por su persistencia. Los síntomas que son más frecuentes en niños que en adultos son: las infecciones bacterianas recurrentes, tumefacción parotídea crónica, neumonía intersticial linfoide y comienzo precoz de un deterioro neurológico progresivo⁹.

Infecciones.

Aproximadamente el 20% de las enfermedades que definen SIDA en niños, son infecciones bacterianas recurrentes, causadas sobre todo por microorganismos encapsulados como *S. pneumoniae* y *Salmonella*. Las infecciones graves más comunes son la bacteriemia, la sepsis y la neumonía que representa más del 50% del total de la infecciones en los niños con VIH⁹. Las infecciones recurrentes más leves, como la otitis media, la sinusitis y las infecciones de la piel y los tejidos

blandos, se producen a menudo y pueden tener un curso crónico y presentaciones atípicas.

La candidiasis oral es la infección micótica más frecuente. La histoplasmosis diseminada y la coccidioidomicosis o la criptococosis son raras en pacientes pediátricos.

Las infecciones parasitarias, como la criptosporidiosis o la microsporidiosis intestinal, son otras infecciones oportunistas causantes de una morbilidad significativa.

Las infecciones víricas, como el herpes simple, la varicela-zoster y el citomegalovirus, plantean problemas significativos en los niños infectados. Las infecciones por virus respiratorio sincitial y adenovirus pueden presentar síntomas prolongados y una diseminación vírica persistente.

Sistema nervioso central.

En los niños con infección perinatal en países en desarrollo, suele estar afectado en el 50-90% de los casos⁹. La edad media de comienzo son los 19 meses de edad. La presentación más frecuente es la encefalopatía progresiva con pérdida o falta de progreso en los hitos del desarrollo, deterioro cognitivo, alteración del crecimiento encefálico y disfunción motora simétrica. La encefalopatía puede progresar de forma intermitente. Los niños mayores pueden desarrollar problemas conductuales y dificultades de aprendizaje. Los signos neurológicos focales son poco frecuentes y pueden implicar la coexistencia de otros procesos patológicos como infecciones o tumores del sistema nervioso central.

Tracto respiratorio.

Las infecciones del tracto respiratorio son muy frecuentes. Son muy comunes los patógenos habituales pero también se pueden aislar patógenos inusuales que pueden causar complicaciones. La neumonía intersticial linfocítica ocurre en cerca del 25% de los pacientes⁹.

Sistema cardiovascular.

Lo más frecuente son anomalías cardíacas subclínicas y también las arritmias sinusales.

Aparato gastrointestinal.

Manifestaciones orales como la candidiasis eritematosa, la enfermedad periodontal y enfermedad de las glándulas salivales. Infecciones intestinales y hepáticas. La enteropatía del SIDA, que es un síndrome de malabsorción con atrofia parcial de las vellosidades, la diarrea crónica, el dolor abdominal, la disfagia y el retraso ponderoestatural, son otras manifestaciones comunes.

Enfermedad renal.

La nefropatía es más frecuente en los niños mayores, siendo la manifestación más frecuente el síndrome nefrótico.

Manifestaciones cutáneas.

Suelen ser anomalías no exclusivas de esta infección pero con tendencia a presentarse de forma diseminada y con mala respuesta al tratamiento convencional. Son frecuentes, la dermatitis seborreica, la hiperqueratosis epidérmica y las infecciones cutáneas.

Enfermedades hematológicas.

Se han descrito alteraciones de las tres series hematológicas: anemia (20-70%), leucopenia y trombocitopenia (10-20%) que pueden deberse a la propia infección o a la acción farmacológica⁹.

Los tumores son menos frecuentes en niños que en adultos, siendo el linfoma no Hodgkin, el linfoma primario del sistema nervioso central y el leiomioma, los más comunes. El sarcoma de Kaposi es muy raro en niños.

Manifestaciones oculares.

Debidas a la acción directa del virus o a infecciones oportunistas y tumores. La microangiopatía retiniana, inducida por el virus, implica progresión del SIDA,

asociándose con un bajo recuento de células CD4+. También puede producirse infiltración por tumores, como el sarcoma de Kaposi, y conjuntivitis y coriorretinitis infecciosas. La retinitis por citomegalovirus es responsable de un gran porcentaje de la pérdida visual encontrada en estos pacientes.

1.5 DIAGNÓSTICO DE LA INFECCIÓN POR VIH.

El diagnóstico de la infección por VIH consiste en aislar el virus, en identificar alguno de sus componentes (proteínas, ARN o ADN) o en demostrar la presencia de anticuerpos específicos.

La presencia de virus en el cultivo se pone de manifiesto mediante la detección de antígenos víricos o de la transcriptasa inversa.

La determinación cuantitativa del ARN vírico se ha incorporado a la práctica clínica rutinaria ya que se trata del mejor marcador pronóstico y la mejor forma de monitorizar la respuesta o el fracaso a un determinado tratamiento³. La tasa de progresión clínica y la mortalidad a los 6-10 años es muy baja para los pacientes con viremia plasmática (carga viral) por debajo de las 5.000-10.000 copias de ARN/mL y se incrementa considerablemente cuando la cifra está por encima de las 30.000-100.000 copias/mL.

La presencia de anticuerpos específicos se debe considerar, en la práctica, como signo de infección activa. De hecho, en la práctica totalidad de los individuos con anticuerpos, sintomáticos o asintomáticos, se puede aislar el virus o detectar su genoma³. Los casos en los que se ha podido aislar el virus sin que fuera posible detectar anticuerpos son excepcionales. En algunos casos se trataba de fases muy precoces de la infección (los anticuerpos tardan 4-6 semanas en aparecer) y en los restantes no se aclaró la causa.

1.5.1 DIAGNÓSTICO SEROLÓGICO.

En cuanto a la detección de anticuerpos anti-VIH, las pruebas serológicas se basan en la detección de anticuerpos contra una o varias de las proteínas del virus y son las que más se utilizan para el diagnóstico de la infección por el VIH-1.

En general, se considera que las glucoproteínas de la envoltura son más inmunógenas que las proteínas del núcleo, pero el tipo de anticuerpos del suero y su título pueden variar según la fase evolutiva de la infección e, incluso, de unas áreas geográficas a otras.

Pruebas de cribado.

Las pruebas de detección habituales de anticuerpos VIH han experimentado un importante desarrollo y mejoras desde su aparición. En los enzimoimmunoanálisis (ELISA) de primera generación, se utilizaban lisados virales de VIH-1.

En la actualidad, en cambio, se utilizan péptidos recombinantes/sintéticos de VIH-1 y VIH-2 y VIH-1 “O” y anticuerpos para detectar el antígeno p24 (EIA/ELFA [*enzyme-linked fluorescent assay*] de cuarta generación)²⁹. Con ello, se consigue una mayor sensibilidad sin disminuir la especificidad y permiten la detección de anticuerpos frente a tipos y subtipos del VIH que escapaban a los equipos de diagnóstico anteriores.

La aportación más reciente a las pruebas inmunoenzimáticas ha sido la detección simultánea del antígeno p24 y anticuerpos VIH²⁹. El periodo ventana, de dos a cuatro semanas de duración, se caracteriza por la ausencia de anticuerpos y la presencia de antígeno p24 y ARN viral. Por ello, las técnicas EIA/ELFA de cuarta generación permiten minimizar al máximo el efecto del periodo ventana.

El método de detección de anticuerpos basado en el enzimoimmunoanálisis (ELISA) es el más barato y sencillo. Si la prueba es positiva en, al menos, dos ocasiones, la presencia de una infección por VIH-1 se puede confirmar casi en el 100% de los casos^{3,30}. Actualmente, la tasa de falsos positivos es inferior al 1%²⁹.

Existen, a su vez, pruebas de cribado rápido de anticuerpos, que permiten obtener un resultado en 1-2 horas. Son útiles en situaciones de urgencia pero su lectura es subjetiva, en algunos casos pueden aparecer dudas en su interpretación y son frecuentes los falsos positivos. Por este motivo, se recomienda la combinación de distintas pruebas para confirmar los resultados positivos.

Pruebas de confirmación.

Debido a la trascendencia de la infección por VIH, es importante confirmar los resultados positivos. Las pruebas de confirmación se basan en la inmunoelectrotransferencia o *Western blot*, la inmunofluorescencia indirecta (IFI), la radioinmunoprecipitación (RIPA) y el *inmunoblot* con antígenos recombinantes (LIA).

IFI y RIPA son menos utilizadas, por su lectura subjetiva, por su precio y por la complejidad de los requerimientos de laboratorio, entre otras.

Western blot es la más utilizada, permite analizar con detalle el tipo de anticuerpos presentes, incluso existen modalidades que incorporan un péptido sintético específico del VIH-2 (gp36). Como criterios de positividad del *Western blot*, la Organización Mundial de la Salud (OMS) considera la reactividad frente a dos glicoproteínas cualesquiera de gp160, gp120 o gp41 y la *Food and Drug Administration* (FDA) acepta la presencia, como mínimo, de p24, p32 y gp41 o gp120 o gp160²⁹.

La prueba diagnóstica se debe realizar en los primeros dos días de vida, con 1 o 2 meses de edad y con 4 o 6 meses. Debido al paso de anticuerpos de la madre al feto a través de la placenta, todos los lactantes de madres infectadas por el VIH dan resultado positivo en la prueba de detección de anticuerpos al nacer¹⁷. La mayoría de los lactantes no infectados pierden los anticuerpos entre los 6 y los 12 meses de edad, pero una pequeña parte siguen con resultados positivos hasta los 18 meses de edad. En cualquier niño mayor de 18 meses, el diagnóstico se basa en la

serología, la demostración de anticuerpos IgG contra el VIH establece el diagnóstico de infección por VIH.

Determinación de la viremia plasmática de VIH.

Existen distintos tipos de análisis diagnósticos virológicos: PCR para ADN (cualitativo) o ARN del VIH (cuantitativa. Carga viral), cultivo del VIH o determinación inmunodisociada del antígeno p24. Estas pruebas son más útiles en niños pequeños, entre 1-6 meses de edad.

El método aprobado por la Food and Drug Administration (FDA) es una PCR-ARN (Amplicor HIV-1 Monitor test 1.5. Roche®) que realiza una transcripción inversa del ARN del gen *gag* y, posteriormente, la PCR. Otro método es el *branched DNA* o ADNb (Versant HIV-1 RNA 3.0 Assay Bayer®) que realiza una hibridación de 98 *probes* a diferentes regiones del gen de la polimerasa³¹. En un estudio comparativo se demostró mayor sensibilidad del ADNb para detectar subtipos no B³².

Se recomienda emplear siempre la misma técnica y en el mismo laboratorio, con objeto de poder establecer comparaciones fiables entre los pacientes³³.

Según los criterios del CDC, el diagnóstico de infección por VIH en menores de 18 meses requiere 2 pruebas directas de virus positivas, en 2 muestras de sangre separadas una semana (Tabla 2). La infección se puede descartar en el lactante, si tiene dos resultados negativos y, al menos una de la pruebas se hizo después de los 4 meses de edad¹⁷.

En general, se recomienda una determinación basal y, al menos, una evaluación en las semanas 4, 12 y 24 de tratamiento, para continuar con posterioridad el seguimiento cada 3-4 meses²⁹. Debería ser indetectable entre las semanas 16-24 tras el inicio del tratamiento.

La carga viral ayuda en la decisión de iniciar el tratamiento y en la valoración del riesgo de transmisión, puesto que se ha demostrado que cuanto mayor es la carga viral, mayor es el riesgo de transmisión. La FDA reconoce la carga viral como el

principal indicador de actividad antiviral³⁴, aunque tenga ciertas limitaciones para su interpretación y aplicación pronóstica³⁵. Además, es útil como método diagnóstico de infección por el VIH durante el período ventana en la primoinfección, cuando todavía los anticuerpos específicos anti-VIH pueden no ser detectables²⁹.

En la actualidad, existen diversas técnicas disponibles en España que permiten la detección de hasta un nivel de 50 copias de ARN de VIH por mililitro de plasma y que se diferencian en los formatos, tiempos y capacidad de procesamiento. Las nuevas técnicas de transcripción reversa-reacción en cadena de la polimerasa (RT-PCR) en tiempo real basadas en sondas fluorescentes son, en general, más rápidas y permiten rangos dinámicos más amplios (40-107 copias/ml). El umbral de detección de las técnicas aplicadas hoy día en la práctica clínica para determinar la carga viral es 50 ó 200 copias/ml. Existen métodos más sensibles, que determinan hasta 5 copias/ml pero, actualmente, sólo están al alcance de laboratorios de investigación.

La carga viral se expresa en logaritmo en base decimal (Log_{10}). Las modificaciones de la carga viral sólo se consideran significativas si son superiores a 0,5 Log_{10} , que es el mayor coeficiente de variación esperado por problemas de metodología y de fluctuaciones de la carga viral³⁶. Con terapia antirretroviral de gran actividad (TARGA), cabe esperar descensos de la carga viral mayores o iguales a 1,0 Log_{10} ³³.

Todas las técnicas detectan y cuantifican el subtipo B, que es el más prevalente en nuestro medio, así como los subtipos circulantes más frecuentes (A, C, D, F, G). El procedimiento comercializado por Abbott es el que tiene el rango más amplio de detección de subtipos y es el único que cuantifica el grupo O. Ninguna de las técnicas licenciadas detecta el VIH-2²⁹.

El cultivo de VIH tiene una sensibilidad similar a la PCR para ADN del VIH, pero es técnicamente más compleja y cara y los resultados pueden tardar de 2 a 4 semanas en comparación con los 2-3 días que tarda la PCR.

El análisis del antígeno p24 es más barato, altamente específico y fácil de realizar, pero resulta menos sensible que otras pruebas virológicas y no se recomienda en menores de un mes por la alta tasa de falsos positivos.

Tabla 2. Criterios del CDC para el diagnóstico de la infección por VIH en niños¹⁷.

Menores de 18 meses	18 meses o más.
Detección de viremia positiva: <ul style="list-style-type: none"> - Cultivo. - PCR. - Antígeno p24. Cumple criterios clínicos de SIDA.	Detección de anticuerpos positiva: <ul style="list-style-type: none"> - ELISA repetido. - Confirmación por Western blot. Detección de viremia positiva. Cumple criterios clínicos de SIDA.

PCR: reacción en cadena de la polimerasa; ELISA: enzimoimmunoanálisis.

1.6 EPIDEMIOLOGÍA DE LA INFECCIÓN POR VIH.

Los primeros casos de SIDA se diagnosticaron en el año 1981. A partir de ese momento, el número de casos fue aumentando, convirtiendo esta enfermedad en una pandemia sin precedentes en la historia de la medicina, la principal pandemia que ha afectado a la humanidad desde mediados del siglo XX.

Al principio, se detectó la enfermedad en pacientes homosexuales y en hemofílicos y más tarde se reconocieron las vías heterosexual y vertical como vías de transmisión. Cada día, más de 6800 personas contraen la infección por el VIH y más de 5700 fallecen a causa del SIDA, en la mayoría de los casos debido a un

acceso inadecuado a los servicios de prevención y tratamiento del VIH. La pandemia del VIH sigue constituyendo uno de los desafíos más importantes en enfermedades infecciosas para la salud pública³⁷.

La Organización Mundial de la Salud (OMS) estimó que cerca de 40 millones de personas en todo el mundo sufrían infección por VIH a finales de 2001. Cada 2 años se elabora un programa conjunto de las Naciones Unidas sobre el VIH/SIDA (ONUSIDA) y la Organización Mundial de la Salud (OMS). En el último, de diciembre de 2007¹¹, se estima que en el mundo vivían 33,2 millones de personas con SIDA durante 2007, y el 7,5% (2,5 millones) eran niños menores de 15 años. El número estimado de personas que viven con el VIH se halla en su nivel más alto debido a la acumulación continua de nuevas infecciones con períodos más prolongados de supervivencia.

Se calcula que se produjeron 2,5 millones de nuevas infecciones por VIH, de las cuales, 420.000 eran en niños. En cuanto al número de defunciones causadas por el SIDA, en 2007 se produjeron 2,1 millones, 330.000 en niños. Desde principios de la década de 1990, el número de nuevas infecciones en Europa Occidental ha disminuido más de un 70%³⁸ y, en los últimos años, se ha mantenido relativamente estable.

En el Informe sobre la epidemia mundial de SIDA de 2008³⁷, se destaca que el porcentaje mundial de personas que viven con el VIH se ha estabilizado desde el año 2000. La tasa de nuevas infecciones por VIH ha disminuido en algunas regiones pero, a nivel mundial, el aumento de nuevas infecciones en otros países contrarresta, al menos en parte, estas tendencias favorables.

En los últimos años ha habido un cambio en la vía predominante de transmisión, con una disminución de los contagios por uso de drogas vía parenteral y un aumento de los casos infectados por vía heterosexual. En Europa occidental, la infección por el VIH transmitida a través de las relaciones heterosexuales se ha

más que duplicado entre 1997 y 2002³⁹. Las mujeres son físicamente más vulnerables a la infección por el VIH que los varones y el número de mujeres que viven con el VIH ha aumentado en todas las regiones del mundo en los últimos dos años, hasta el punto de que, en la actualidad, constituyen, en muchas regiones, más de la mitad de los adultos infectados por el VIH^{37, 39}.

África subsahariana continúa siendo la región más afectada, donde el SIDA sigue siendo la principal causa de muerte. Esta región supone no más del 10% de la población mundial pero alberga más del 60% de la población total infectada por VIH y el 90% de todos los niños VIH positivos¹². En 2007, el 76% de las defunciones se produjeron en esa región del continente.

La epidemia de VIH en España, junto con Italia, Francia y Reino Unido, sigue siendo la mayor de Europa occidental y central. Al inicio de la década de 1990 se estimaba que ya se habían producido más de 100.000 infecciones en España, y durante años se registraron aquí las tasas de SIDA más altas de Europa⁴⁰. El abandono de la vía parenteral por parte de los usuarios de drogas, los programas de reducción de daños y el resto de medidas de prevención adoptadas propiciaron un descenso progresivo de la transmisión del VIH en España. En consecuencia, en los últimos años, el patrón epidemiológico de transmisión del VIH ha cambiado también en nuestro país: la transmisión parenteral ha dejado de ser la predominante para ser sustituida por la sexual. Actualmente, el mecanismo principal de transmisión en estas regiones es la vía heterosexual^{11, 37, 38}. Dentro del grupo de transmisión heterosexual, más del 50% de los nuevos diagnósticos de VIH corresponden a mujeres.

El riesgo potencial de transmisión del VIH de madre a hijo sigue siendo elevado, ya que entre 1 y 3 de cada 1.000 mujeres que dan a luz están infectadas³⁸. En España, al igual que en el resto del mundo, el número de infecciones y de casos de SIDA en hijos de madres infectadas se redujo considerablemente desde que se

recomendaron las medidas de prevención durante el embarazo, pero todavía se producen casos esporádicos. El principal problema siguen siendo los embarazos no controlados que, además, suelen ser más frecuentes en mujeres procedentes de países de alta prevalencia.

La prevalencia estimada se sitúa en torno a las 3 infecciones por mil habitantes⁴⁰. Esta población se mantiene bastante estable puesto que, según los datos disponibles, el número de nuevas infecciones que se incorporan anualmente es bastante similar al de fallecimientos acaecidos en este colectivo.

La inmigración no ha cambiado la tendencia descendente de la incidencia de infecciones por el VIH en España, pero implica nuevas exigencias para adaptar la prevención³⁸.

La morbilidad y mortalidad asociadas al SIDA eran altas⁴¹, pero han descendido significativamente desde la introducción de los tratamientos antirretrovirales de gran actividad⁴⁰. Sin embargo, en los últimos años, este descenso se ha ido suavizando debido a factores que disminuyen la eficacia de este tratamiento: diagnóstico tardío de la infección, falta de adherencia al tratamiento y aparición de resistencias a antirretrovirales³⁸.

1.7 PREVENCIÓN DE LA INFECCIÓN POR VIH.

La respuesta a esta epidemia sería insostenible sin la prevención. Se han realizado numerosos estudios de investigación sobre métodos de prevención de la infección por VIH pero el único método preventivo totalmente seguro es evitar las conductas de riesgo¹². El CDC identificó distintos grupos de personas de riesgo: adictos a drogas vía parenteral, los que mantienen relaciones sexuales de riesgo y aquellos que recibieron transfusión sanguínea entre los años 1978 y 1985, entre otros.

A partir de esta situación epidemiológica, se han emprendido numerosas actuaciones para la prevención y el control de la epidemia en España. El conjunto de estas estrategias constituyó el Plan Nacional sobre el SIDA, en el que participan las administraciones estatales, autonómicas y locales, organizaciones no gubernamentales y colegios profesionales, entre otros³⁸.

Es importante incrementar el nivel de información de la población sobre la infección por VIH y las enfermedades de transmisión sexual, sus mecanismos de transmisión y las conductas que disminuyen el riesgo de exposición. En la actualidad, los subgrupos de población que requieren intervenciones específicas en España son los que tienen relaciones sexuales de riesgo, los adictos a drogas vía parenteral, el personal sanitario y las mujeres embarazadas con infección por VIH.

Las mujeres con VIH pueden transmitir la infección a sus hijos durante el embarazo, en el momento del parto o durante la lactancia. Este riesgo de transmisión vertical está cifrado en un 13-48%, pero se reduce a menos de un 2% gracias a un conjunto de medidas⁴⁰. Para una correcta prevención de la transmisión vertical de la infección por el VIH es imprescindible el conocimiento de la situación de infectada por parte de la mujer embarazada, por ello es obligado ofrecer a toda mujer embarazada, independientemente de sus antecedentes epidemiológicos, la realización de la serología frente al VIH como parte del cribado rutinario. Dado que el momento de la transmisión es desconocido, la profilaxis farmacológica se realiza ante e intraparto y en las primeras 6 semanas de vida del recién nacido. Es también importante la reducción de la exposición del niño a la sangre y secreciones maternas mediante la cesárea programada y contraindicando la lactancia materna.

1.8 APARICIÓN DE RESISTENCIAS.

El uso de antirretrovirales tiene un gran inconveniente, la selección biológica de variantes del VIH resistentes cuando la capacidad inhibitoria del tratamiento es insuficiente, con la consiguiente aparición de cepas virales resistentes a los diferentes fármacos antirretrovirales.

El tratamiento antirretroviral de gran actividad contribuye a una supresión mantenida de la carga viral y a una mejoría del recuento de linfocitos T CD4+, favoreciendo un descenso en la mortalidad y morbilidad de los pacientes con infección por VIH. Sin embargo, no siempre se alcanza una supresión completa de la carga viral como consecuencia de regímenes terapéuticos con insuficiente actividad viral, de transmisión de virus resistentes, de problemas farmacológicos o de una mala adherencia al tratamiento⁴².

La escasa fidelidad de la transcriptasa inversa y la ADN polimerasa en la codificación, facilitan la incorporación de errores en el ADN viral antes de la integración en el genoma de la célula huésped⁴³. Además, la ARN polimerasa de la célula huésped también comete errores. El estudio realizado por Coffin⁴⁴ et al., estimó que al menos 10^9 nuevas células son infectadas al día en una infección típica por VIH durante la fase latente o crónica de la enfermedad. Esta rápida diseminación unida a los fallos de transcripción contribuye a que, en presencia de fármacos antirretrovirales, se seleccionen mutaciones en proteínas determinadas favoreciendo el desarrollo de resistencias.

La mala adherencia también contribuye a la aparición de resistencias. Paterson et al.⁴⁵ demostró que es necesaria una adherencia del 95% para maximizar la supresión de la replicación viral. La relación entre adherencia y riesgo de fallo terapéutico es más o menos lineal, pero la relación entre la adherencia y el riesgo de resistencia no lo es. Existen dos escenarios relacionados con resistencia

mínima: niveles muy altos de adherencia, asociados a máxima supresión de la replicación viral y muy poca adherencia, sin inhibición de la replicación viral⁴⁶.

La resistencia del VIH al tratamiento, fue descrita por primera vez a los tres años de la introducción de la zidovudina en el tratamiento de la infección por VIH⁴⁷. Posteriormente, se han ido describiendo resistencias a cada fármaco antirretroviral. Algunas mutaciones causantes de resistencia a un fármaco, confieren resistencia cruzada a otras drogas. El desarrollo de estas resistencias, reduce significativamente la eficacia del tratamiento y es una causa importante de fallo terapéutico.

El grupo de mutaciones y resistencias a fármacos (Internacional AIDS Society-USA Drug Resistance Mutations Group) actualiza los datos sobre mutaciones del VIH asociadas a resistencia clínica a fármacos⁴⁸. Según datos recientes, la proporción de personas que se infectan con aislados virales resistentes se ha incrementado. Este hecho refuerza la recomendación del uso de los tests de resistencia para la elección del primer tratamiento antirretroviral en aquellos pacientes recientemente infectados^{49, 50}. Además, en los últimos años, diferentes estudios clínicos prospectivos y retrospectivos han demostrado que los pacientes multitratados controlados por clínicos con acceso a datos de resistencia, responden mejor a la terapia antirretroviral pautada que pacientes controlados por clínicos que no tienen acceso a dichos datos⁴⁹.

En el paciente pediátrico no son del todo extrapolables los datos de resistencias documentados en adultos. En los nuevos casos de infección en el recién nacido es frecuente la transmisión de cepas resistentes de sus madres previamente tratadas⁵¹.

En los niños infectados verticalmente por el VIH, no siempre se alcanza una supresión de la carga viral por debajo del umbral de detectabilidad (< 50 copias/ml). El estudio de Larrú et al.⁵² demuestra cómo la prevalencia de resistencia a

antirretrovirales, tras fracasos terapéuticos, es elevada en niños y que el número de mutaciones halladas aumenta a medida que aumenta la duración del tratamiento. Este estudio halló un 50,4%, 9,3% y 40,3 % de mutaciones asociadas con resistencia a ITAN, ITNAN e IP, respectivamente.

1.8.1 PRUEBAS DE DETECCIÓN DE RESISTENCIAS.

Cuando se produce fallo virológico, es obligado conocer la sensibilidad del VIH a los fármacos antirretrovirales disponibles, con el fin de elegir el nuevo régimen de tratamiento.

Existen diferentes técnicas moleculares que permiten detectar aislados del VIH resistentes a los diferentes fármacos antirretrovirales. Se recomienda realizarlas en pacientes con fracaso terapéutico y en pacientes no tratados antes de iniciar el tratamiento, en mujeres embarazadas y en el caso fuente, en caso de exposición ocupacional⁵³.

Las limitaciones de estas técnicas incluyen que, para ser detectada la existencia de una especie vírica resistente, se precisa una carga viral superior a 1.000 copias/ml y que la cepa resistente represente el 20% o más de la población³³.

Existen tres metodologías distintas para evaluar la susceptibilidad a antirretrovirales: genotípicas, fenotípicas y fenotipo virtual.

Pruebas genotípicas.

Determinan las mutaciones en la secuencia primaria de nucleótidos de la transcriptasa inversa y la proteasa, comparándola con la secuencia de una cepa salvaje⁵⁴.

Identifican mutaciones o cambios de nucleótidos que han sido previamente reconocidos por conferir resistencia a fármacos antirretrovirales. Estas pruebas amplifican el fragmento del genoma a estudiar (generalmente el gen de la transcriptasa inversa o de la proteasa²⁹) mediante PCR. Posteriormente,

secuencian y analizan mutaciones o cambios de nucleótidos que han sido previamente reconocidos por conferir resistencia a fármacos antirretrovirales. Existen sistemas de interpretación clínica de las mutaciones obtenidas y sistemas que obtienen un fenotipo virtual a partir de la información procedente de alrededor de 100.000 genotipos con sus fenotipos correspondientes²⁹. Estas mutaciones de resistencia pueden, por tanto, predecir la actividad antiviral y eficacia terapéutica de los fármacos⁴⁹. El uso de los tests de resistencia para el manejo terapéutico de los pacientes con VIH en tratamiento se ha expandido rápidamente, y ahora se consideran como una herramienta habitual en la práctica clínica, tanto en América del Norte como en algunos países europeos. Sin embargo, en otros muchos países o áreas geográficas todavía estos tests se usan principalmente en ensayos clínicos como una herramienta de investigación⁴⁹.

Se requiere un mínimo de carga viral en plasma de, aproximadamente, 1.000 copias/ml y, actualmente, existen distintos preparados. Los más usados son: TRUGENE® HIV-1 Genotyping Test (Siemens) y ViroSeq® HIV Genotyping System (Abbott Diagnostics)²⁹.

Pruebas fenotípicas.

Se expresan como concentración de fármaco necesaria para inhibir la replicación viral en un cultivo celular. Generalmente, como concentración necesaria para disminuir al 50% la replicación viral *in vitro* (CI₅₀). Estas técnicas son más certeras al evaluar la sensibilidad del virus frente a cada fármaco. Miden, directamente, la susceptibilidad de un aislado viral a los fármacos antirretrovirales. Emplean virus aislados del paciente, procedentes de células mononucleares de sangre periférica o virus recombinantes.

Son complejas y necesitan mucho tiempo para obtener resultados, por lo que son menos utilizadas.

Fenotipo virtual.

Predice la susceptibilidad a fármacos basándose en contrastar mutaciones definidas con una base de datos que incluye secuencias genéticas de un conjunto muy extenso de virus con una susceptibilidad fenotípica definida a fármacos antirretrovirales. Sin embargo, algunos estudios cuestionan su utilidad. El estudio CREST⁵⁵, un estudio prospectivo, aleatorizado para evaluar el resultado de la prescripción de TARGA usando test de resistencia genotípica aislado o asociado con fenotipo virtual, reveló que la determinación del fenotipo virtual no añadía ningún beneficio.

1.9 TRATAMIENTO DE LA INFECCIÓN POR VIH.

En 1986, se publican los primeros trabajos sobre la molécula conocida como AZT (azidothymidin), que conseguía mejoras en pacientes con SIDA^{56, 57}. El 19 de marzo de 1987, se convertiría en el primer fármaco aprobado por la FDA (Food and Drug Administration) para el tratamiento de esta enfermedad. A partir de ese momento, comienzan a desarrollarse nuevas moléculas hasta el comienzo de la terapia combinada en 1996 que ha conseguido restaurar parcialmente la inmunidad celular en los pacientes con SIDA, retrasar considerablemente la progresión clínica y reducir la mortalidad^{3, 58}.

Hasta ahora no se ha conseguido la erradicación del VIH, pero se ha logrado el control inmunológico de la infección. El objetivo del tratamiento antirretroviral es reducir al mínimo posible la carga viral plasmática (por debajo del límite de detección de los métodos de laboratorio habituales), durante períodos de tiempo lo más prolongados posibles y, al mismo tiempo, minimizar la toxicidad⁵⁹. Ello se traduce en un retraso significativo de la evolución clínica y una importante

disminución de la mortalidad. Al mismo tiempo se evita la selección de mutantes resistentes preexistentes y su acumulación.

Desde 1998, disponemos en España de medicamentos antirretrovirales comercializados que pertenecen a diferentes grupos farmacológicos y son capaces de atacar al VIH-1 en dianas diferentes. El TARGA se basa en la combinación de tres o más fármacos antirretrovirales y ha conseguido una disminución significativa de la mortalidad^{60, 61}.

1.9.1 CONCEPTOS DE FARMACOCINÉTICA.

La farmacocinética es el estudio cuantitativo de los procesos de absorción, distribución, metabolismo y eliminación de un fármaco⁶². El primer requisito para que un fármaco ejerza su efecto es el acceso al lugar de acción a una concentración adecuada.

La absorción es el movimiento de un fármaco desde el sitio de administración hasta la circulación sanguínea. Puede producirse por difusión pasiva, por filtración o por transporte especializado. Se entiende por biodisponibilidad, la fracción de fármaco inalterado que alcanza la circulación general.

La distribución es el proceso por el que un fármaco difunde o es transportado desde el espacio intravascular hasta los tejidos y células corporales. Parte del fármaco puede circular unido a proteínas plasmáticas, de manera que sólo la fracción libre, no unida a proteínas, es farmacológicamente activa. La mayoría de fármacos se unen a la albúmina pero también pueden unirse a otras proteínas como la alfa-glicoproteína, un reactante de fase aguda cuyos niveles se ven afectados por enfermedades concomitantes³⁴.

Un concepto importante es el de volumen de distribución: volumen de líquido en el que se disuelve el fármaco. Depende de la cantidad de fármaco unido a proteínas plasmáticas, de modo que valores bajos de volumen de distribución son indicativos

de una alta fijación proteica. Este concepto es útil para calcular la dosis de fármaco necesaria para alcanzar la concentración sanguínea adecuada. También es útil disponer de información sobre las concentraciones séricas máximas (C_{\max}) después de la administración de una determinada dosis, el tiempo requerido para alcanzar el pico sérico (T_{\max}), la concentración mínima (C_{\min}), la concentración valle (C_{valle}), la semivida plasmática, la tasa de unión a proteínas y la difusión a diferentes tejidos⁶³.

El metabolismo es la conversión química o transformación, de fármacos o sustancias endógenas, en compuestos más fáciles de eliminar. Las principales reacciones de transformación de los fármacos se clasifican en reacciones de fase I: oxidación, reducción e hidrólisis y reacciones de fase II: conjugación. Las reacciones de oxidación tienen lugar sobre todo en los microsomas hepáticos, que contienen el principal sistema metabolizador hepático, el citocromo P450. Está formado por un grupo de numerosas isoenzimas de baja especificidad para muchos fármacos. Los metabolitos resultantes pueden ser activos o inactivos.

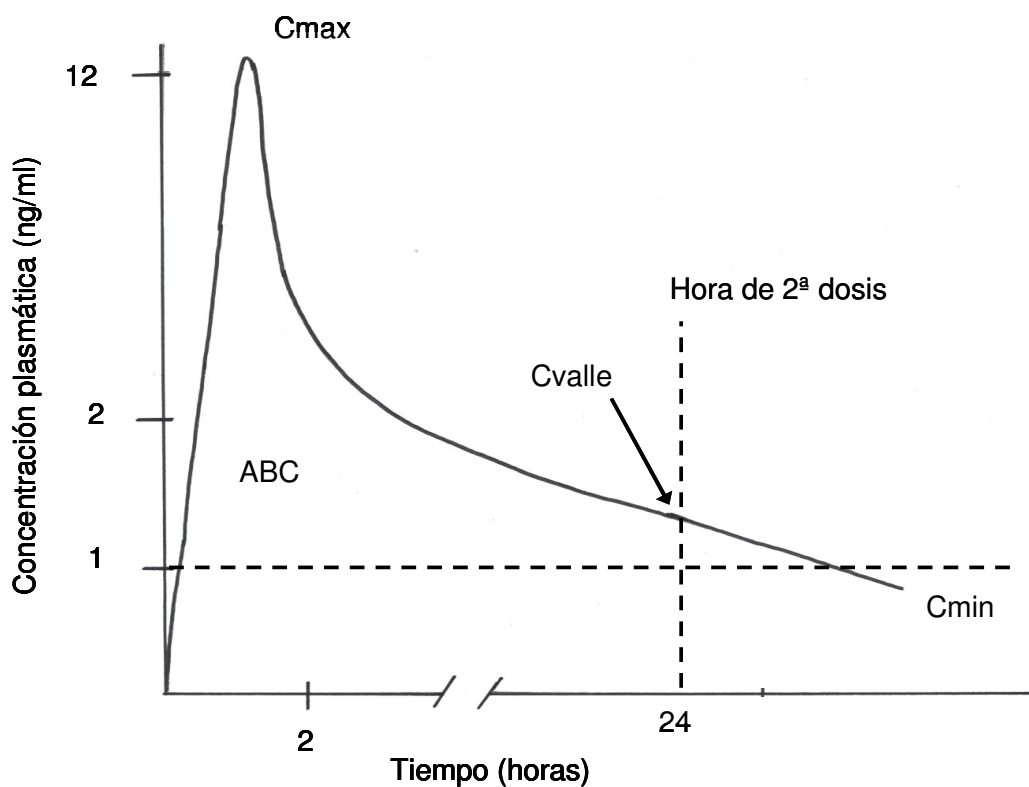
La eliminación es la excreción de un compuesto, metabolito o fármaco no cambiado, del cuerpo mediante un proceso renal, biliar o pulmonar.

La medida de la concentración plasmática de un fármaco a diferentes tiempos tras su administración no intravenosa origina una curva de niveles plasmáticos, en la que la parte ascendente refleja la velocidad del proceso de absorción y la parte descendente informa acerca de la distribución y eliminación del fármaco. El periodo de latencia es el tiempo que el fármaco tarda en alcanzar la concentración plasmática necesaria para que se manifieste la acción farmacológica. La duración de acción es el tiempo que el fármaco mantiene la concentración plasmática eficaz. La intensidad del efecto se relaciona con la máxima concentración que alcanza el fármaco a la dosis administrada. El margen de seguridad es el cociente entre la concentración a partir de la cual se manifiesta el efecto tóxico y la concentración a partir de la cual se inicia el efecto farmacológico. El área bajo la curva (ABC) de

niveles plasmáticos es un parámetro que permite comparar el comportamiento de un fármaco cuando es administrado a dosis distintas, por vías distintas, o por la misma vía pero en formas farmacéuticas diversas.

Los distintos parámetros farmacocinéticos proporcionan datos distintos pero están estrechamente relacionados entre sí⁶⁴ (Figura 5).

Figura 5. Representación gráfica de los distintos conceptos farmacocinéticos.



ABC: área bajo la curva. C_{max} : concentración máxima. C_{min} : Concentración mínima. C_{valle} : concentración valle.

El ABC se relaciona con la eficacia y la toxicidad. Su principal desventaja es que, para calcularlo, se necesita una gran cantidad de muestras plasmáticas a lo largo del intervalo de dosificación, de modo que su determinación es más compleja.

La C_{max} informa sobre la exposición máxima al fármaco y se relaciona, principalmente, con la toxicidad y a su vez con la eficacia terapéutica. Un

inconveniente es que el momento en el que se alcanza la concentración máxima tras la ingesta varía mucho de paciente a paciente, de modo que para detectarla correctamente habría que obtener varias muestras en las primeras horas tras la ingesta.

La C_{\min} es la concentración más baja del intervalo de dosis. El concepto es distinto al de C_{valle} , que es la concentración plasmática del fármaco en el momento anterior a la siguiente dosis. C_{\min} y C_{valle} no siempre coinciden aunque, para la mayoría de los fármacos, ambas concentraciones son similares y la confusión terminológica no es clínicamente relevante, porque la concentración comienza a aumentar poco después de la toma.

C_{valle} es el parámetro farmacocinético más ampliamente estudiado en la literatura y el que más se asocia a eficacia virológica⁶⁴. Una de sus ventajas es la relativa facilidad de determinación, ya que sólo se necesita una muestra de sangre.

Otro parámetro importante es la concentración efectiva (CE), que es la concentración plasmática necesaria para inhibir la replicación viral permanentemente. De modo que, si C_{\min} es mayor que CE, el virus se inhibiría correctamente. CE es una concentración teórica que puede encontrarse en la literatura, se calcula con estudios fenotípicos *in vitro* de cepas sensibles del virus. Es posible determinar la concentración de droga necesaria para inhibir el 50%, 90% o 95% de la replicación viral (CI50, CI90, CI95). Esta concentración inhibitoria (CI) se corrige según la unión a proteínas plasmáticas de cada fármaco, para obtener un parámetro que correspondería teóricamente con CE (CE50, CE90, CE95). Como la replicación viral debe ser inhibida lo máximo posible, CE90 o CE95 serían mejor que CE50 aunque normalmente se usa CE50 porque puede ser determinado con mayor precisión⁶⁴.

Todos estos cálculos presuponen que todas las cepas virales son igual de susceptibles al fármaco, pero esto no es siempre cierto. El nivel plasmático eficaz

para inhibir virus sensibles no lo es para virus con susceptibilidad reducida. Para solucionar este problema ha surgido el concepto de cociente inhibitorio (QI). Es un parámetro que relaciona la concentración del fármaco con la susceptibilidad del virus⁶⁵⁻⁶⁷. Se define como el cociente entre la exposición al fármaco y el nivel de resistencia de la cepa viral^{68, 69}. La exposición al fármaco se obtiene con ABC, C_{max} o C_{min} , siendo C_{min} el parámetro que se usa con más frecuencia. La resistencia del virus se estima con la CE50, de modo que el QI habla del número de veces que C_{min} está por encima de CE50, por lo que es un buen parámetro para evaluar si un fármaco será efectivo frente a un virus con susceptibilidad específica. El mayor inconveniente es la necesidad de fenotipar el virus, una técnica compleja, cara y que se realiza en pocos laboratorios⁶⁴. Para solucionar este problema se ha creado el concepto de cociente inhibitorio virtual (vQI) que utiliza el fenotipo virtual: una interpretación del genotipo viral mediante una base de datos que incluye gran cantidad de genotipos, con sus fenotipos correspondientes, de modo que sólo es necesario conocer el genotipo y aplicar el programa informático que permite interpretarlo.

La utilización de estos parámetros farmacocinéticos es, por tanto, tremendamente compleja y son necesarios más estudios antes de su aplicación clínica⁷⁰.

1.9.2 GRUPOS FARMACOLÓGICOS.

Los fármacos antirretrovirales se clasifican en distintos grupos según el mecanismo de acción a lo largo del ciclo vital del VIH.

Inhibidores de la transcriptasa inversa análogos de los nucleósidos (ITAN).

Fueron la primera clase de antirretrovirales desarrollados. Su actividad depende de los niveles intracelulares alcanzados tras diversas reacciones químicas de

fosforilación^{71, 72}. Actúan inhibiendo la transcriptasa inversa del virus, impidiendo la replicación viral al incorporarse a la cadena del ADN, evitando el ensamblaje de nuevas unidades.

Zidovudina (AZT, ZDV). Análogo de la timidina. Fue el primer antirretroviral aprobado por la Food and Drug Administration (FDA), el 19 de Marzo de 1987^{73, 74}. Se utiliza en regímenes de terapia múltiple y como monoterapia en hijos de madres infectadas por VIH en las primeras seis semanas de vida. Tras su administración, es convertido por enzimas celulares en zidovudina trifosfato, que interfiere en la actividad de la transcriptasa inversa. Una vez administrada, se absorbe rápidamente por vía digestiva y alcanza su concentración plasmática máxima a las 0,4-1,5 horas. Su volumen de distribución es de 1,4-1,6 l/kg. Su unión plasmática a proteínas es del 30-38%. Se metaboliza en el hígado y se elimina por vía renal. Su vida media plasmática es de 0,5-3 horas. Sus efectos secundarios más frecuentes son: toxicidad hematológica (anemia, granulocitopenia), miopatía, acidosis láctica, cefalea, toxicidad hepática y neurológica. Los niveles plasmáticos de zidovudina disminuyen si se administra con claritromicina, nelfinavir, rifampicina o ritonavir y aumentan si se administra con probenecid, fluconazol, metadona o ácido valproico. La dosis normal en niños es 160 mg/m² cada 8 horas ó 4 mg/kg cada 12 h (oral), 1-2 mg/kg cada 4 h (en infusión intravenosa intermitente) o 20 mg/m²/h (en infusión intravenosa continua). La dosis neonatal es de 2 mg/kg cada 6 horas (oral) o 1,5 mg/kg cada 6 horas (intravenosa). La dosis en adolescentes y adultos es de 300 mg cada 12 h (oral).

Didanosina (ddl). Análogo de la deoxiadenosina. Segundo antirretroviral aprobado por la FDA, el 9 de Octubre de 1991⁷⁵. Tras su administración, es transformado por enzimas celulares en el metabolito activo (dideoxiadenosina trifosfato) que inhibe la transcriptasa inversa e interrumpe la síntesis de ADN viral. Una vez administrada oralmente, se absorbe rápidamente, alcanzando su C_{max} a las

0,25-1,5 horas. Hay mucha variabilidad inter-individual en su biodisponibilidad, muy influenciada por el pH gástrico. Dado que la didanosina se deteriora fácilmente con la acidez estomacal, la fórmula original utilizó tabletas masticables con un compuesto neutralizante. Estas tabletas eran muy grandes, frágiles y de mal sabor. La nueva formulación es una cápsula más pequeña, que contiene microesferas cubiertas y ha sido aprobada por la FDA para su dosificación una vez al día⁷⁶. Su unión plasmática a proteínas es menor del 5%. Se metaboliza en el hígado y se elimina por vía renal. Su vida media plasmática en niños es de 0,8 horas. Sus efectos secundarios más frecuentes son: diarrea, dolor abdominal, náuseas, vómitos y otros menos frecuentes como neuropatía periférica, alteraciones electrolíticas e hiperuricemia. La dosis normal en niños es de 90 a 150 mg/m² cada 12 h ó 120-240 mg/m² cada 24 h. La dosis en adolescentes y adultos es de 200 mg cada 12 horas o 400 mg cada 24 horas (si más de 60 kg de peso) o bien, 125 mg cada 12 horas o 250 mg cada 24 horas (si menos de 60 kg de peso).

Zalcitabina (ddC). Análogo de la pirimidina. Tercer antirretroviral aprobado por la FDA, el 19 de junio de 1992 para monoterapia, y en 1996 para combinación con AZT⁷⁷. Su metabolito activo es la forma trifosfato. Es menos potente que otros ITAN, su administración es más incómoda ya que es cada 8 horas. Se asocia a múltiples efectos secundarios: cefalea, mal estado general, neuropatía periférica, pancreatitis, toxicidad hepática, erupciones cutáneas, úlceras bucales y esofágicas y toxicidad hematológica. Por todos estos motivos, no se comercializa en muchos países⁷⁸. La dosis en niños es 0,01 mg/kg cada 8 horas. La dosis en adolescentes y adultos es 0,75 mg cada 8 h.

Estavudina (d4T). Análogo de la timidina. Cuarto antirretroviral aprobado por la FDA el 24 de junio de 1994 y en 1996 para uso pediátrico⁷⁹. En el 2001 se aprobó la versión para dosificación de una vez al día⁸⁰. Se utiliza en regímenes de terapia múltiple. Tras su administración, es fosforilado por las enzimas celulares

hasta convertirse en su metabolito estavudina trifosfato, que inhibe la actividad de la transcriptasa inversa y de la ADN polimerasa celular. Una vez administrada, se absorbe rápidamente por vía digestiva y alcanza su C_{max} en la primera hora. Su biodisponibilidad oral es del 86% en adultos y del 77% en niños. Se puede administrar con las comidas ya que, aunque disminuye su C_{max} , no se modifica su ABC. Su volumen de distribución es de 0,73 l/kg en niños. Su unión plasmática a proteínas es insignificante. Se metaboliza en el hígado y se elimina por vía renal. Su vida media plasmática es de 1,6 horas. Sus efectos secundarios más frecuentes son: cefalea, alteraciones gastrointestinales y manchas cutáneas. También, neuropatía periférica, acidosis láctica, lipodistrofia y pancreatitis. En la actualidad, tiende a utilizarse menos por su mayor asociación a lipodistrofia^{81, 82}. Las drogas que disminuyen la función renal pueden disminuir su aclaramiento, su asociación con didanosina aumenta el riesgo de neuropatía periférica y no se recomienda su asociación con zidovudina por la posibilidad de antagonismo. La dosis normal en niños es 1 mg/kg cada 12 horas. La dosis en adolescentes y adultos es 30 mg/12h para pesos entre 30 y 60 kg y 40 mg/12 h para mayores de 60 kg.

Lamivudina (3TC). Es un análogo de la citidina. Aprobado por la FDA el 17 de noviembre de 1995 para combinación con AZT⁸³ y en el 2002 en formulación para usar una vez al día⁸⁴. Se utiliza en regímenes de terapia múltiple y, como alternativa, en hepatitis crónica por VHB. Tras su administración, es convertido por enzimas celulares en lamivudina trifosfato, que inhibe la transcriptasa inversa del VIH y la actividad polimerasa de virus de la hepatitis B. Una vez administrada, se absorbe rápidamente con una biodisponibilidad del 80-88% en adultos y adolescentes y del 66-68% en niños. Alcanza su C_{max} a las 0,5-2 horas. Su volumen de distribución es de 0,9-1,7 l/Kg. Su unión plasmática a proteínas es baja (36%). La mayoría del fármaco se elimina por vía urinaria inalterada. Se metaboliza en el hígado y se elimina por vía renal. Su vida media plasmática es de 5-7 horas. Sus

efectos secundarios más frecuentes son: cefalea, astenia, náuseas, diarrea, dolor abdominal e irritación cutánea. También puede producir pancreatitis (más frecuente en niños con infección avanzada en tratamiento con múltiples medicamentos), neutropenia e hipertransaminasemia. Es conveniente evitar su administración con fármacos que produzcan pancreatitis o neuropatía periférica, por el riesgo de interacciones. No se aconseja su administración con zalcitabina porque inhibe su fosforilación intracelular. Su asociación con trimetoprim-sulfametoxazol, incrementa los niveles plasmáticos de lamivudina, posiblemente por competición a nivel de la secreción tubular renal. La dosis normal en niños es 4 mg/kg cada 12 horas (máximo 300 mg/día). La dosis neonatal es de 2 mg/kg cada 12 horas. La dosis en adolescentes y adultos es 150 mg cada 12 horas o 300 mg cada 24 horas.

Abacavir (ABC). Es un análogo de guanosina. Aprobado por la FDA el 17 de diciembre de 1998⁸⁵. Se utiliza en regímenes de terapia múltiple. Tras su administración, es convertido por enzimas celulares en carbovir trifosfato, que inhibe la transcriptasa inversa. Una vez administrado, se absorbe rápidamente por vía digestiva con una biodisponibilidad oral del 83%, que no se afecta por la ingesta de alimentos. Su volumen de distribución es de 0,71-1,01 l/kg. Su unión plasmática a proteínas es del 50%. Se metaboliza en el hígado y se elimina por vía renal (84%) y digestiva (16%). Su vida media plasmática es de 1,5 horas. Al ser un fármaco con probable menor toxicidad mitocondrial, su uso es cada vez mayor. Su administración se ha asociado a reacciones de hipersensibilidad grave caracterizadas por fiebre, mal estado general, exantema, síntomas gastrointestinales o respiratorios que suelen manifestarse en las 6 primeras semanas desde el inicio del tratamiento y desaparecen en pocos días tras su retirada. Estas reacciones son potencialmente mortales y se producen en, aproximadamente, el 5% de los pacientes tratados con este fármaco⁸⁶. Se están desarrollando estudios genéticos que permiten predecir, en cierto grado, la

susceptibilidad individual al desarrollo de esta hipersensibilidad, aunque esta prueba aún no está estandarizada⁸⁷⁻⁸⁹. Puede tomarse con o sin alimentos, aumenta el aclaramiento de la metadona y su metabolismo disminuye si se asocia a alcohol. No hay dosis establecida de abacavir para menores de 3 meses. La dosis normal en niños mayores de 3 meses y adolescentes es de 8 mg/kg cada 12 horas o 16 mg/kg cada 24 horas (dosis máxima: 600 mg al día). La dosis en adultos es 300 mg cada 12 horas o 600 mg cada 24 horas.

Tenofovir (TNF). Es un análogo de la adenosina. Fue aprobado por la FDA el 26 de Octubre de 2001⁹⁰. Está indicado para tratamiento antirretroviral en terapia combinada. Tras su administración, es convertido en su metabolito activo, el tenofovir difosfato, que inhibe la actividad de la transcriptasa inversa. Una vez administrado por vía digestiva, alcanza su C_{max} en 1 hora. Su volumen de distribución es de 1,2-1,3 l/kg. Su unión plasmática a proteínas es menor del 7%. Debe administrarse con los alimentos. No tiene metabolismo hepático, se metaboliza y se elimina por vía renal. Sus efectos secundarios más frecuentes son: toxicidad gastrointestinal, hipofosfatemia y, menos frecuentemente, anemia de Fanconi, glucosuria, fosfaturia, hipercalciuria y aumento de creatinina. Presenta mejor perfil lipídico que la mayoría de ITAN⁹¹, pero es fundamental vigilar su posible toxicidad ósea, con alteración de mineralización. Produce aumento de la concentración de didanosina, por lo que se requiere disminución de la dosis de didanosina cuando se administran en una misma pauta. La dosis en niños es 8mg/kg/día en mayores de 4 años. A pesar de llevar varios años en el mercado, es de uso compasivo en pediatría ya que, por el momento, hay escasos datos de farmacocinética, eficacia y toxicidad en niños⁹². La dosis en adolescentes y adultos es 300 mg cada 24 horas. Es necesario disminuir la dosis en pacientes con afectación de la función renal.

Emtricitabina (FTC). Es un análogo de la citidina. Fue aprobado por la FDA el 2 de julio de 2003⁹³. Se utiliza en regímenes de terapia múltiple. Tras su administración, es convertido por enzimas celulares en emtricitabina trifosfato, que inhibe la síntesis del ADN viral. Una vez administrada por vía oral, se absorbe muy rápido y alcanza su C_{max} a las 1-2 horas. Su biodisponibilidad es del 93%. Menos del 4% del fármaco se une a proteínas plasmáticas. Se metaboliza en el hígado por glucuronidación y oxidación, sin inhibir el citocromo P450. Se elimina por vía renal. Su vida media plasmática es de 10 horas. Sus efectos adversos más frecuentes son: intolerancia digestiva, cefalea, anemia y neutropenia. También puede producir pancreatitis e hiperpigmentación de palmas y plantas. La dosis en niños mayores de 33 kg y adultos es de 200-240 mg cada 24 horas. La dosis normal en niños es 6 mg/kg cada 24 horas (máximo 240 mg/24 horas). Existe una presentación en solución y existen datos disponibles en niños por encima de 3 meses. Recientemente se ha aprobado en nuestro país, tanto en comprimidos como en solución, aceptándose su indicación en mayores de 4 meses⁹⁴.

Tabla 3. Descripción de las características farmacocinéticas de los ITAN.

ABACAVIR	
Análogo	Guanosina
Dosis	Niños: 8 mg/kg/12 h o 16 mg/kg/24 h Adultos: 300 mg/12 h o 600 mg/24 h
Biodisponibilidad oral (%)	83
Vida media plasmática (horas)	1,5
Unión a proteínas (%)	50
DIDANOSINA	
Análogo	Adenosina
Dosis	Niños: 90-150 mg/m ² /12 h ó 120-240 mg/m ² /24 h Adultos: 200 mg/12 h o 400 mg/24 h
Biodisponibilidad oral (%)	40
Vida media plasmática (horas)	0,8
Unión a proteínas (%)	< 5
EMTRICITABINA	
Análogo	Citidina
Dosis	Niños: 6 mg/kg/24 h Adultos: 200-240 mg/24 h
Biodisponibilidad oral (%)	93
Vida media plasmática (horas)	10
Unión a proteínas (%)	< 4
LAMIVUDINA	
Análogo	Citidina
Dosis	Niños: 4 mg/kg/12 h Adultos: 150 mg/12 h o 300 mg/24 h
Biodisponibilidad oral (%)	86
Vida media plasmática (horas)	5-7
Unión a proteínas (%)	36

Tabla 3. Continuación de tabla anterior.

ESTAVUDINA	
Análogo	Timidina
Dosis	Niños: 1 mg/kg/12 h Adultos: 30 mg/12h (<60 kg), 40 mg/12 h (> 60 kg)
Biodisponibilidad oral (%)	86
Vida media plasmática (horas)	1-1,6
Unión a proteínas (%)	< 5
TENOFOVIR	
Análogo	Adenosina
Dosis	Niños: 8mg/kg/24 h Adultos: 300 mg/24 h
Biodisponibilidad oral (%)	25
Vida media plasmática (horas)	17
Unión a proteínas (%)	< 7
ZALCITABINA	
Análogo	Pirimidina
Dosis	Niños: 0,01 mg/kg/8 h Adultos: 0,75 mg/8 h
Biodisponibilidad oral (%)	85
Vida media plasmática (horas)	1,2
Unión a proteínas (%)	< 5
ZIDOVUDINA	
Análogo	Timidina
Dosis	Niños: 160 mg/m ² /8 h ó 4 mg/kg/12 h Adultos: 300 mg/12 h
Biodisponibilidad oral (%)	60
Vida media plasmática (horas)	0,5-3
Unión a proteínas (%)	30-38

Inhibidores de la transcriptasa inversa no análogos de los nucleósidos (ITNAN).

Los ITNAN son un grupo de antirretrovirales de estructura química heterogénea que son capaces de inhibir la transcriptasa inversa del VIH-1 pero no la del VIH-2⁹⁵. Entre las propiedades que les diferencian de los ITAN se encuentran las siguientes: no requieren fosforilación u otro tipo de metabolismo intracelular para actuar, se combinan con la transcriptasa inversa de un modo no competitivo e inactivan su lugar catalítico, no se incorporan a las cadenas de ADN y son muy poco citotóxicos. Se metabolizan en el hígado antes de ser eliminados y se utilizan asociados a otros antirretrovirales para evitar la aparición de resistencias⁹⁶.

Delavirdina (DLV). Fue aprobado por la FDA el 4 de Abril de 1997⁹⁷, para uso en terapia combinada con, al menos, otros dos fármacos antirretrovirales. Se une directamente a la transcriptasa inversa y bloquea la acción de la ADN polimerasa. No inhibe al VIH-2 ni el grupo O del VIH-1. Se absorbe rápidamente por vía oral y su biodisponibilidad aumenta un 20% cuando se disuelve en agua. En un 98% se une a proteínas plasmáticas y el tiempo medio en alcanzar su C_{max} es una hora. Su metabolismo es fundamentalmente hepático por la vía del citocromo P450, fundamentalmente por la familia de isoenzimas CYP3A a las que inhibe. Su vida media en plasma es de 5,8 horas, aproximadamente. Se elimina fundamentalmente por orina (50%) en forma de metabolitos y en escasa proporción sin modificar. Sus efectos adversos más frecuentes son exantema (generalmente leve y autolimitado aunque se han descrito casos de Stevens-Johnson), síndrome gripal, alteraciones digestivas, respiratorias y del sistema nervioso. Es necesario ajustar la dosis de delavirdina y la de los fármacos coadministrados que sean metabolizados por el citocromo P450, incluidos los inhibidores de la proteasa. La dosis en adultos es de 400 mg, tres veces al día.

Nevirapina (NVP). Aprobado por la FDA el 21 de Junio de 1996⁹⁸ para uso en terapia combinada. Actúa como inhibidor no competitivo de la transcriptasa inversa. Se absorbe muy bien por vía oral, con una biodisponibilidad del 93%. El tiempo en alcanzar C_{max} es de 4 horas y su volumen de distribución es de 1,21 l/kg. Su unión a proteínas plasmáticas es del 60%. Se metaboliza a través del citocromo P450, principalmente por isoenzimas de la familia CYP3A. Los metabolitos se eliminan por vía renal como conjugados glucorónido. Menos del 3% de nevirapina se excreta sin modificar. En niños, la eliminación se acelera durante el primer año de vida, alcanzando el máximo a los dos años de edad. Posteriormente, disminuye gradualmente durante el resto de la infancia. Su actividad inductora de la isoenzima CYP3A puede resultar en un descenso de las concentraciones plasmáticas de otros fármacos coadministrados que sean metabolizados por dicha vía (inhibidores de la proteasa, anticonceptivos orales, ketoconazol). Puede administrarse con alimentos. Sus efectos adversos principales son: exantema (10-20%), somnolencia, cefalea, granulocitopenia, náuseas y diarrea. Menos frecuentemente, puede producir hipertransaminasemia. La dosis en niños es de 4 mg/kg/día durante 2 semanas, con posterior aumento hasta 4 mg/kg cada 12 horas. La dosis en adultos es de 200 mg cada 24 horas durante 14 días y, posteriormente, 200 mg cada 12 horas. Algunos estudios han observado mejores resultados utilizando dosis altas de nevirapina (300 mg/m²/día), siendo buena la tolerancia, por lo que recomiendan utilizar dosis altas en niños⁹⁹.

Efavirenz (EFV). Fue aprobado por la FDA el 17 de Septiembre de 1998¹⁰⁰, para uso en combinación con otros antirretrovirales. Se une directamente a la transcriptasa inversa, inhibiendo su actividad. Su C_{max} se alcanza en 5 horas, aproximadamente. Aunque puede tomarse con o sin alimentos, se recomienda no administrarlo con comidas ricas en grasa ya que aumentan su biodisponibilidad en un 50%. Se une a proteínas plasmáticas en un 99,6%, principalmente a albúmina.

Se metaboliza en el hígado, por el citocromo P450 (isoenzimas CYP3A4 y CYP2B6), a metabolitos hidroxilados, inactivos. Estos metabolitos son glucuronizados y se eliminan por las heces, principalmente. Efavirenz es un inductor-inhibidor de las enzimas del citocromo P450, pudiendo aumentar o disminuir las concentraciones plasmáticas de fármacos coadministrados como inhibidores de la proteasa (disminuye los niveles plasmáticos de saquinavir, e indinavir y aumenta los niveles de ritonavir), antihistamínicos y anticonceptivos orales, entre otros. Los principales efectos secundarios son: exantema cutáneo, efectos sobre el sistema nervioso central (52%) (somnolencia, insomnio, pesadillas, confusión, alteración de la concentración, amnesia, agitación, despersonalización, alucinaciones, euforia) y elevación de las transaminasas. Es teratogénico por lo que está contraindicado en el embarazo. La dosis en adultos y niños de más de 40 kg es 600 mg cada 24 horas. La dosis en niños mayores de 3 años, depende del peso, 200 mg/día (niños entre 10 y 15 kg), 250 mg/día (15-20 kg), 300 mg/día (20-25 kg), 350 mg/día (25-32,5 kg) y 400 mg/día (32,5-40 kg). Se desconoce la dosis óptima de efavirenz en los primeros 3 años de vida, período en el que existe una gran variabilidad farmacocinética y en el que, con frecuencia, no se alcanzan concentraciones terapéuticas³⁶.

Etravirine (TMC-125). Fue aprobado por la FDA el 18 de Enero de 2008¹⁰¹, para uso en terapia combinada con, al menos, otros dos fármacos antirretrovirales. Es un ITNAN de segunda generación que se caracteriza porque inhibe la transcriptasa inversa uniéndose a su región activa de manera flexible. De modo que es activo incluso cuando la conformación de esa región cambia por mutaciones de virus resistentes. Su metabolismo es hepático y puede inhibir o inducir el metabolismo de fármacos metabolizados por las isoenzimas CYP3A4, CYP2C9 y CYP2C19 (aumenta los niveles plasmáticos de amprenavir y nelfinavir, disminuye los niveles de atazanavir e indinavir). Se aconseja no administrarlo con otros ITNAN

porque disminuyen la concentración de etravirine. Los efectos secundarios más frecuentes son náuseas y exantema (15%), también se ha descrito un empeoramiento de los síntomas hepáticos en pacientes con coinfección por hepatitis B o C. Otros efectos menos frecuentes son: dolor abdominal, astenia, neuropatía periférica, cefalea e hipertensión. La dosis en adultos es de 200 mg cada 12 horas.

Inhibidores de la proteasa (IP).

Estos fármacos actúan inhibiendo de forma específica y competitiva la proteasa viral. De este modo, previenen la rotura de los precursores de las proteínas gag y gag-pol en células infectadas, ocasionando la formación de partículas virales inmaduras, no infecciosas. Son agentes activos contra VIH-1 y VIH-2. Se emplean en terapia combinada ya que poseen acción sinérgica con ITAN e ITNAN.

Precisan niveles valle altos para obtener la máxima supresión de la replicación viral, muy por encima de la concentración del fármaco que reduce en un 50% el crecimiento del virus en cultivo (CI_{50}).

Los IP aprobados en niños son nelfinavir, ritonavir, amprenavir y la asociación de lopinavir con dosis bajas de ritonavir, puesto que son los únicos disponibles en preparación pediátrica, con datos de farmacocinética.

Amprenavir (APV). Fue aprobado por la FDA el 15 de Abril de 1999¹⁰², para uso en terapia combinada. Es un inhibidor de la proteasa selectivo, competitivo y reversible. Es activo en células infectadas aguda y crónicamente. Su actividad antiviral no requiere la conversión intracelular a metabolito activo. Su absorción intestinal no es muy buena cuando se administra solo pero aumenta sustancialmente cuando se pauta con vitamina E. La biodisponibilidad de la solución oral es un 14% menor que la de las cápsulas. La C_{max} se alcanza una hora después de su administración. Su metabolismo es a través del citocromo P450 (CYP3A4). Existen diversas interacciones, rifampicina disminuye la concentración

de amprenavir en un 82% y efavirenz disminuye la concentración de amprenavir un 39%. Se ha descrito, también, una interacción importante con lopinavir con disminución de niveles de ambos. El 75% de la dosis se elimina por vía digestiva y el resto por la orina. Los efectos adversos más frecuentes son: vómitos, náuseas, diarrea, parestesias orales y exantema (22%). También pueden aparecer otros más raros como exantema grave (incluyendo síndrome de Stevens-Johnson), diabetes y sangrado en hemofílicos. Las dosis en niños de 4-12 años y menores de 50 kg es de 20 mg/kg cada 12 horas (máximo 2,4 gr/día) en cápsulas y 17 mg/kg cada 8 horas (máximo 2,8 gr/día) en solución. La dosis en mayores de 12 años y de 50 kg es de 1200 mg cada 12 horas en cápsulas o 1400 mg cada 12 horas en solución.

Fosamprenavir (f-APV). Es el profármaco de amprenavir. Fue aprobado por la FDA el 20 de Octubre de 2003¹⁰³. Se hidroliza a amprenavir rápidamente mediante la acción de las fosfatasas celulares en el epitelio intestinal. El tiempo en alcanzar C_{max} tras la administración oral es de 1,5-4 horas. Su unión a proteínas plasmáticas es del 90%. Se metaboliza en el hígado, por el citocromo P450 (CYP3A4) y la vida media de eliminación plasmática es de 7,7 horas. Se elimina por vía urinaria y digestiva. Los efectos secundarios más frecuentes, asociados al uso de fosamprenavir son: hipertrigliceridemia, exantema (19%), trastornos depresivos, hiperglucemia, náuseas, dolor abdominal, diarrea, vómitos (más frecuentes en niños) y cefalea. Las cápsulas pueden tomarse con o sin alimentos y la suspensión oral con alimentos. Los niveles plasmáticos de fosamprenavir disminuyen si se administra con saquinavir, rifampicina y otros fármacos metabolizados por el citocromo P450. La dosis para adultos es de 700 mg cada 12 horas, asociado a 100 mg de ritonavir. No existe experiencia en niños.

Atazanavir (ATV). Fue aprobado por la FDA el 20 de Junio de 2003¹⁰⁴. Se absorbe rápidamente, con un tiempo medio hasta alcanzar C_{max} de 2-2,5 horas. Su administración con una comida ligera, aumenta su biodisponibilidad. Su unión a

proteínas plasmáticas es del 86%. Se metaboliza en el hígado por el citocromo P450 e inhibe CYP3A y UGT1A1. Su vida media de eliminación es de 7 horas, aproximadamente. Su eliminación es, principalmente, por vía digestiva y también por vía urinaria. Los efectos adversos asociados incluyen: reacción alérgica, hiperglucemia, hiperbilirrubinemia, acidosis láctica, síntomas intestinales, exantema (21%). No debe administrarse con fármacos que sean sustrato de CYP3A, CYP2C8 o UGT1A1 porque aumenta sus concentraciones plasmáticas (saquinavir, atorvastatina, claritromicina, inmunosupresores, rifabutina, etc). La dosis en adultos es de 300 mg cada 24 horas, asociado a 100 mg de ritonavir. No existe experiencia en niños.

Indinavir (IDV). Fue aprobado por la FDA el 13 de Marzo de 1996¹⁰⁵, para uso en terapia combinada. Se absorbe rápidamente por vía digestiva y alcanza su C_{max} en 0,8 horas. Se debe administrar en ayunas y es necesaria una adecuada hidratación para minimizar el riesgo de nefrolitiasis. Se une a proteínas plasmáticas en un 60%¹⁰⁶. Se metaboliza en el hígado (CYP3A4) y su vida media plasmática es de 1,1-1,8 horas. La administración con rifampicina o nevirapina disminuye sus niveles y ritonavir y ketoconazol producen un incremento en su concentración plasmática. Su eliminación es, principalmente, por vía intestinal. Los efectos adversos más frecuentes son: náuseas, dolor abdominal, cefalea, hiperbilirrubinemia asintomática (10%) y sabor metálico. Los episodios espontáneos de sangrado en hemofílicos y la hiperglucemia son menos frecuentes. La dosis en niños es 350-500 mg/m² cada 8 horas (máximo 800 mg/dosis) y en adolescentes y adultos, 800 mg cada 8 h¹⁰⁷.

Nelfinavir (NFV). Fue aprobado por la FDA el 14 de Marzo de 1997¹⁰⁸, para uso en combinación con otros antirretrovirales. Su actividad antiviral no requiere su conversión intracelular a metabolito activo. Se absorbe bien por vía oral, alcanzando la C_{max} en unas 2-4 horas. Se aconseja su administración con las

comidas para que la absorción sea máxima y no mezclar con ninguna comida ácida o zumos. Se une a proteínas plasmáticas en un 98% y se metaboliza por vía hepática (citocromo P450, principalmente por las isoenzimas CYP3A y CYP2C19) a un metabolito oxidado (trihidroximetabolito de nelfinavir o M8) que presenta la misma actividad in vitro que el fármaco de origen. La variabilidad del nivel de M8 frente al nivel de nelfinavir es pequeña¹⁰⁹. Rifampicina disminuye significativamente la concentración de nelfinavir. La vida media de eliminación plasmática es de 3,5-5 horas en adultos y de dos a tres veces mayor en niños menores de 13 años. Nelfinavir se elimina por vía digestiva. Sus efectos secundarios más frecuentes son diarrea, náuseas, vómitos y cefalea (más común en pacientes que reciben zidovudina). Son menos frecuentes: astenia, dolor abdominal, hiperglucemia y exantema. La dosis en niños es 25-30 mg/kg cada 8 horas o 55-60 mg/kg cada 12h. En adolescentes y adultos 750 mg cada 8 h o 1250 mg cada 12 h. Aunque, algunos estudios afirman que son necesarias dosis más altas en niños¹¹⁰⁻¹¹².

En Septiembre del año 2007, Pfizer® informó del descubrimiento de impurezas en el proceso de fabricación de Nelfinavir. Se detectaron niveles elevados de etilmetanosulfonato (EMS), un compuesto químico con efectos cancerígenos y teratógenos¹¹³.

Ritonavir (RTV). Fue aprobado por la FDA el 1 de Marzo de 1996¹¹⁴. Dado que inhibe el metabolismo de otros IP, se está usando cada vez más, a dosis bajas, para aumentar las concentraciones plasmáticas de otros IP. También se ha descrito este efecto potenciador de ritonavir cuando se asocia a amprenavir, indinavir, nelfinavir y saquinavir^{115, 116}. En un estudio in vitro, ritonavir aumenta la concentración intracelular de indinavir y amprenavir mediante inhibición de la actividad de la glicoproteína P. Las dosis bajas utilizadas con ritonavir como potenciador no conducen a la selección de resistencias al mismo, ya que las

concentraciones de ritonavir que se alcanzan nunca llegan a la zona de presión selectiva, con lo que no se desarrollan cepas mutantes¹¹⁷.

Se absorbe bien por vía oral, con C_{max} alcanzada a las 2-4 horas. La administración con las comidas aumenta la absorción. Su volumen de distribución es de 0,41 l/kg. Se une a proteínas plasmáticas en un 98-99% y su vida media plasmática es de 3-5 horas. El aclaramiento en niños es 1,5 veces mayor que en adultos. El fármaco tiene metabolismo hepático y se elimina por vía digestiva (86,4%). Los efectos secundarios más comunes son: náuseas, vómitos, diarrea, cefalea, dolor abdominal y anorexia. Son menos frecuentes: parestesias periorales, hipertransaminasemia, episodios de sangrado espontáneo en hemofílicos, pancreatitis, hipertrigliceridemia e hipercolesterolemia y diabetes. La dosis en niños es 350-400 mg/m² cada 12 horas y en adultos 600 mg cada 12 horas. El tratamiento se inicia con dosis bajas y se aumenta, de forma progresiva, hasta la dosis terapéutica. Como potenciador de otros IP, se utiliza a dosis de 100-200 mg cada 12-24 horas.

Saquinavir (SQV). Aprobado por la FDA el 6 de Diciembre de 1995¹¹⁸. La biodisponibilidad de las cápsulas de gelatina blanda es mucho mayor que las de gelatina dura. Su administración dos horas antes de las comidas, aumenta su absorción. Se une a proteínas plasmáticas un 97% y se metaboliza en el hígado (CYP3A4). Rifampicina disminuye la concentración de saquinavir en un 80% y rifabutina en un 40%. Nevirapina también disminuye la concentración de saquinavir. Se elimina por vía digestiva, principalmente. Los principales efectos adversos son diarrea, molestias abdominales, cefalea, náuseas e hiperglucemia. La dosis en adolescentes y adultos es 600 mg cada 8h (Invirase[®]) y 1200 mg cada 8 horas o 1600 mg cada 12 horas (Fortovase[®]). Con dosis baja de ritonavir (100mg/12h), 1000 mg cada 12h. La dosis en niños es de 55 mg/kg cada 8 horas o 33 mg/kg en combinación con otro IP.

Tipranavir (TPV). Aprobado por la FDA el 22 de Junio de 2005¹¹⁹, para uso

en terapia combinada. Posee actividad antiviral contra un amplio panel de virus del grupo M. Su absorción es limitada y debe administrarse con ritonavir. Su biodisponibilidad aumenta cuando se administra con los alimentos y se une a proteínas en un 99,9%. Su metabolismo es hepático (CYP3A4) y disminuye considerablemente si se administra con ritonavir. Potenciado con ritonavir, parece que podría ser eficaz frente a cepas virales con más de 20 mutaciones a IP¹²⁰. La eliminación es, principalmente, digestiva. Sus efectos adversos más frecuentes son: diarrea, náuseas, astenia, cefalea, vómitos. También se han descrito hiperglucemia, hepatotoxicidad, exantema, lipodistrofia e hipercolesterolemia. La dosis recomendada es de 500 mg de tipranavir con 200 mg de ritonavir cada 12 horas. No está establecida su eficacia y seguridad en niños.

Darunavir (TMC-114). Fue aprobado por la FDA el 23 de Junio de 2006¹²¹, para uso en combinación con otros antirretrovirales. Es un IP de segunda generación, altamente activo frente a cepas de VIH resistentes. Debe administrarse con dosis bajas de ritonavir. Su biodisponibilidad, administrado con ritonavir, es del 82% con un tiempo para alcanzar C_{max} de 2,5-4 horas. Su concentración plasmática es mayor si se administra con las comidas. Se une a proteínas plasmáticas en un 95% y se metaboliza a través del citocromo P450 (CYP3A, principalmente). La vida media de eliminación es de unas 15 horas. Los efectos adversos descritos con más frecuencia incluyen: náuseas, diarrea, cefalea y nasofaringitis. También se han descrito hepatotoxicidad, hipercolesterolemia, exantema, lipodistrofia. Posee diversas interacciones, de manera que, sus niveles plasmáticos aumentan cuando se administra con indinavir y disminuyen si se asocia a efavirenz o lopinavir/ritonavir. La dosis en adultos es de 600 mg cada 12 horas, asociada a 100 mg de ritonavir.

Lopinavir/ritonavir (LPV/r). Es una combinación fija de dos IP. Las cápsulas fueron aprobadas por la FDA el 15 de Septiembre de 2005¹²², para uso en terapia

múltiple. En Marzo de 2006, surgió una nueva formulación en forma de comprimidos, con diversas ventajas respecto a las cápsulas, no precisando ajuste de dosis si se administra con ITNAN y con mayores facilidades de almacenamiento. En Noviembre de 2007, la FDA aprobó una formulación en comprimidos para niños¹²³. La capacidad antiviral se debe a lopinavir. Ritonavir inhibe CYP3A, la principal isoenzima que metaboliza lopinavir. La coadministración resulta en un descenso del metabolismo de lopinavir con el consiguiente aumento de su concentración plasmática.

Puede administrarse con o sin alimentos. Su unión a proteínas plasmáticas es del 98-99%. La vida media sérica de lopinavir es de 5-6 horas. Los efectos adversos más frecuentes son náuseas, vómitos, diarrea, cefalea, dolor abdominal y astenia. También se han descrito, aunque con menor frecuencia, parestesias periorales, hipertransaminasemia, hipercolesterolemia e hipertrigliceridemia y sangrado en hemofílicos. La dosis recomendada en niños mayores de dos años es 230 mg/m² cada 12 horas de lopinavir (máximo 400 mg/12 horas). Coadministrado con EFV o NVP: 300 mg/m² cada 12 horas de lopinavir¹²⁴. La dosis en adolescentes y adultos es de 400 mg de lopinavir cada 12 h. No hay datos de farmacocinética de lopinavir/ritonavir en menores de 6 meses, por lo que aún no se recomienda a esta edad³⁶.

Tabla 4. Descripción de las características farmacocinéticas de los IP.

AMPRENAVIR	
Dosis	Niños: 20 mg/kg/12 h (cáps), 17 mg/kg/8 h (sol) Adultos: 1200 mg/12 h (cáps), 1400 mg/12 h (sol)
Vida media plasmática (horas)	7-10
Unión a proteínas (%)	90
FOSAMPRENAVIR	
Dosis	Adultos: 700 mg/12 h (+100 mg de RTV)
Vida media plasmática (horas)	7,7
Unión a proteínas (%)	90
ATAZANAVIR	
Dosis	Adultos: 300 mg/24 h (+100 mg de RTV)
Vida media plasmática (horas)	7
Unión a proteínas (%)	86
INDINAVIR	
Dosis	Niños: 350-500 mg/m ² /8 h Adultos: 800 mg/8 h
Vida media plasmática (horas)	1,1-1,8
Unión a proteínas (%)	60
NELFINAVIR	
Dosis	Niños: 25-30 mg/kg/8 h o 55-60 mg/kg/12h Adultos: 750 mg/8 h o 1250 mg/12 h
Vida media plasmática (horas)	3,5-5
Unión a proteínas (%)	98
RITONAVIR	
Dosis	Niños: 350-400 mg/m ² /12 horas Adultos: 600 mg/12 h
Vida media plasmática (horas)	3-5
Unión a proteínas (%)	98-99

Tabla 4. Continuación de la tabla anterior.

SAQUINAVIR	
Dosis	Niños: 55 mg/kg/8 h o 33 mg/kg con RTV Adultos: 600 mg/8h (Invirase®), 1200 mg/8 h o 1600 mg/12 h (Fortovase®). Con dosis baja de ritonavir (100mg/12h): 1000 mg/12h
Vida media plasmática (horas)	7
Unión a proteínas (%)	97
TIPRANAVIR	
Dosis	Adultos: 500 mg/12 h (+200 mg de RTV)
Vida media plasmática (horas)	4,8-6
Unión a proteínas (%)	99,9
DARUNAVIR	
Dosis	Adultos: 600 mg/12 h (+100 mg de RTV)
Vida media plasmática (horas)	15
Unión a proteínas (%)	95
LOPINAVIR/RITONAVIR	
Dosis	Niños: 230 mg/m ² /12 h Adultos: 400 mg/12 h
Vida media plasmática (horas)	5-6
Unión a proteínas (%)	98-99

Inhibidores de la fusión.

Actúan inhibiendo el proceso de fusión del complejo glucoproteico gp120/gp41 de la cubierta viral con la membrana celular, bloqueando así la penetración del VIH-1 en los linfocitos T.

Enfuvirtide (T-20). Fue aprobado por la FDA el 13 de Marzo de 2003¹²⁵, para su uso en terapia combinada. Su administración es subcutánea. El tiempo medio en

alcanzar C_{max} es de 8 horas y su biodisponibilidad es del 84,3%. Su volumen de distribución es de 5,5 l y el 92% se une a proteínas plasmáticas. Es un péptido que se metaboliza mediante hidrólisis formando el metabolito M3. La vida media de eliminación es de 3,8 horas. Los efectos adversos más frecuentes incluyen: formación de nódulos subcutáneos, exantema evanescente, prurito, equimosis o dolor en puntos de inyección. Menos frecuentemente, aumento de neumonías bacterianas (descritas en adultos, con relación incierta¹²⁶) y reacción de hipersensibilidad. La dosis es 2 mg/kg cada 12h subcutáneo (dosis máxima 90 mg/12h). Está aprobado para niños mayores de 6 años, para los que existen datos de farmacocinética, eficacia y seguridad¹²⁷.

Inhibidores de la integrasa.

La integrasa es una enzima del VIH que integra la cadena doble de ADN del virus en el ADN cromosómico de la célula huésped. Estos fármacos previenen la inserción del ADN del VIH en el genoma humano, bloqueando la capacidad replicativa del VIH.

Raltegravir (MK-0518). Fue aprobado por la FDA el 12 de Octubre de 2007¹²⁸, para uso en terapia combinada para el tratamiento de pacientes infectados por cepas multirresistentes. Puede administrarse con o sin alimentos. El tiempo medio en alcanzar C_{max} en ayunas es de 3 horas. La biodisponibilidad absoluta de raltegravir no ha sido establecida. Se une a proteínas plasmáticas en un 83% y su vida media es de 9 horas. Su metabolismo es hepático y su eliminación, digestiva y urinaria. Los efectos secundarios más frecuentemente descritos son: diarrea, náuseas, astenia, cefalea y prurito. La dosis recomendada es de 400 mg cada 12 horas, en adultos.

1.9.3 REGÍMENES DE TRATAMIENTO EN NIÑOS.

El Departamento de Salud y Servicios Humanos (Department of Health and Human Services, DHHS) y el grupo de trabajo de la Oficina de Investigación de SIDA de Estado Unidos (Working group of the Office of AIDS Research Advisory Council), han desarrollado unas guías para clínicos, con el objetivo de aconsejar sobre el uso de fármacos antirretrovirales¹²⁹. Del mismo modo, existen guías europeas a este respecto¹³⁰. Estas guías actualizan las recomendaciones según las nuevas evidencias y se basan en datos de duración de la supresión viral, respuesta inmunológica y clínica, existencia de formulaciones pediátricas, intervalos de dosificación e interacciones potenciales. Las principales áreas de atención y revisión incluyen el momento de iniciar el tratamiento, el tipo de terapia múltiple y las combinaciones que deben ser evitadas con el objetivo de disminuir la aparición de resistencias.

Un grupo de especialistas en infección pediátrica por VIH en Estados Unidos (Therapy and Medical Management of HIV-Infected Children) comenzó a establecer las guías terapéuticas del VIH en el año 1993³⁶. Desde entonces, analizan los cambios propuestos periódicamente y establecen las pautas de tratamiento. Desde su inicio, han ocurrido avances dramáticos en el manejo de esta infección.

En España, existen unas recomendaciones terapéuticas establecidas por el Grupo Colaborativo Español de VIH Pediátrico (CEVIHP), la Sociedad Española de Infectología Pediátrica (SEIP), la Asociación Española de Pediatría (AEP) y el Plan Nacional sobre SIDA (PNS)⁹⁴.

Las estrategias terapéuticas continúan centrándose en el inicio precoz del tratamiento capaz de suprimir al máximo la replicación viral y prevenir, con ello, la progresión de la enfermedad, mantener la funcionalidad inmunológica y reducir el desarrollo de resistencias. Al mismo tiempo, la disponibilidad de nuevos fármacos y

formulaciones han permitido la mejora de la adherencia y el descenso de la toxicidad.

La población pediátrica, como grupo de individuos en desarrollo, supone un reto para la adherencia, la aparición de resistencias y el manejo de múltiples fármacos. Aunque la patogenia de la infección y los principios virológicos e inmunológicos son similares para todos los pacientes infectados por el VIH, hay peculiaridades únicas para los niños infectados.

Estas características incluyen:

- Adquisición del virus por vía perinatal en la mayoría de los casos.
- Exposición a zidovudina y otros fármacos antirretrovirales *in utero*, intraparto y/o postparto.
- Necesidad de usar métodos diagnósticos de la infección por VIH en niños menores de 18 meses.
- Diferencias específicas de la edad en el número de células T CD4+.
- Cambios en parámetros farmacocinéticos a medida que se desarrollan y maduran los sistemas implicados en el metabolismo y la eliminación. Una de las mayores peculiaridades del TARGA en niños es su farmacocinética específica.
- Diferencias en las manifestaciones clínicas y virales de la infección perinatal secundarias a una infección primaria en pacientes en crecimiento y con inmadurez inmunitaria. Se ha descrito que los niños infectados verticalmente tienen cargas virales mayores que los adultos, debido a la inmadurez inmunológica⁹⁴.
- Consideraciones especiales en relación con la adherencia al tratamiento en niños y adolescentes. Problemas como la toma de medicación nocturna o en horario escolar, el rechazo de los adolescentes a tomar la medicación, el mal sabor de los preparados comerciales y los efectos secundarios.

Las dificultades para realizar ensayos clínicos en niños, hacen que la mayoría de pautas sean una adaptación de la experiencia en adultos. En la mayoría de los estudios pediátricos, la tasa de respuesta a TARGA es inferior que en adultos¹³¹⁻¹³⁴.

Por todos estos motivos, es imprescindible disponer de pautas de tratamiento adecuadas a la edad pediátrica, además de las guías de adultos.

El objetivo del TARGA es mejorar la situación inmunológica y disminuir al máximo la replicación viral, evitando así la progresión clínica. El objetivo terapéutico, en el momento actual, es alcanzar una carga vírica por debajo de los límites de detección de los métodos comercializados (200-500 copias de ARN vírico/ml de plasma o 20-50 copias/ml de plasma para las técnicas ultrasensibles), y mantenerla indetectable el mayor tiempo posible.

Existe la certeza de que la erradicación del virus no es posible con el TARGA actual¹³⁵ y comenzamos a conocer mejor la toxicidad de los fármacos, por lo que debemos intentar un equilibrio entre no retrasar demasiado el inicio del TARGA, para evitar el deterioro inmunológico, y minimizar los efectos secundarios a largo plazo.

El TARGA se basa en la combinación de tres o más fármacos antirretrovirales. Las combinaciones incluyen, en la mayoría de los casos, dos ITAN y un tercer fármaco que puede ser un IP o un ITNAN.

Las dosis se determinan según el desarrollo puberal, de manera que en los niños con estadios I y II de Tanner se siguen los esquemas pediátricos, en los niños con estadio V se siguen las indicaciones del adulto y en los niños en estadios III y IV, se puede seguir cualquiera de las dos recomendaciones⁹⁴.

Hay medicamentos para los que hace falta que se acumulen varias mutaciones de manera secuencial para seleccionar resistencia de alto nivel, mientras que para otros basta con una única mutación. Para evitar la selección de resistencias, la

única estrategia viable es utilizar una combinación de medicamentos que suprima la replicación vírica y que ofrezca una barrera genética elevada.

Los tratamientos combinados con tres fármacos antirretrovirales han demostrado ser superiores a las monoterapias y a las terapias dobles^{136, 137}. El comité español⁹⁴ considera que se debe individualizar la terapia de inicio, con tres o cuatro fármacos en menores de un año, siendo fundamental en la elección, la historia previa de exposición a antirretrovirales. En mayores de un año, se recomienda iniciar el TARGA con 3 fármacos: 2 ITAN y 1 IP, o bien 2 ITAN y 1 ITNAN (Tabla 5).

Entre los ITAN existen varias opciones válidas, incluyendo pautas de administración una vez al día. Entre los ITNAN, se considera de elección nevirapina en menores de 3 años, y efavirenz o nevirapina a partir de esta edad. Entre los IP se considera preferente lopinavir/ritonavir o nelfinavir. Es importante tener en cuenta las interacciones farmacocinéticas antes de iniciar una pauta de tratamiento⁹⁴, esta información está disponible on line en www.interaccioneshiv.com y en www.hiv-druginteractions.org.

Cuando se ha alcanzado la supresión virológica durante más de seis meses, se puede realizar una sustitución de la terapia por otra que mantenga la misma supresión y que resulte menos compleja y mejore la adherencia, la calidad de vida y la toxicidad. A esto se le denomina simplificación del TARGA y se puede conseguir reduciendo el número de fármacos o de comprimidos^{138, 139}.

Tabla 5. Descripción de las pautas de tratamiento antirretroviral recomendadas en la actualidad.

Pauta	Combinaciones	Alternativa, si fallo terapéutico
< 12 meses	2 ITAN + 1 IP (LPV/r o Nelfinavir) 2-3 ITAN (AZT + 3TC ± ABC) + 1 ITNAN (Nevirapina)	2 ITAN nuevos + 1 ITNAN ó 1 ITAN nuevo + 1 ITNAN + 1 IP potenciado 2 ITAN nuevos + 1 IP potenciado
> 12 meses	2 ITAN + 1 IP (LPV/r o Nelfinavir) 2 ITAN + 1 ITNAN (EFV o Nevirapina)	2 ITAN nuevos + 1 ITNAN ó 1 ITAN nuevo + 1 ITNAN + 1 IP potenciado 2 ITAN nuevos + 1 IP potenciado
Alternativa	3 ITAN (incluyendo ABC) 2 ITAN + 1 IP alternativo (RTV, IDV, APV en > 4 años) 1 ITAN + 1 ITNAN + 1 IP	2 ITAN nuevos + 1 ITNAN ó 2 ITAN + 1 IP

ITAN: Inhibidores de la transcriptasa inversa análogos de los nucleósidos; ITNAN: Inhibidores de la transcriptasa inversa no análogos de los nucleósidos; IP: Inhibidores de la proteasa; LPV/r: Lopinavir/Ritonavir; AZT: Zidovudina; 3TC: Lamivudina; ABC: Abacavir; EFV: Efavirenz; RTV: Ritonavir; IDV: Indinavir; APV: Amprenavir.

La respuesta al tratamiento, básicamente, se controla midiendo la carga viral en plasma, ya que los cambios de la viremia plasmática son rápidos y anteceden en semanas o meses a los cambios inmunológicos o clínicos. Si, después de 4-6 meses de tratamiento, la viremia es detectable o si tras ser indetectable rebota de nuevo, si el paciente progresa clínicamente o si la cifra de linfocitos CD4+ desciende más del 30% del pico máximo o vuelve a su cifra basal, hay que considerarlo como un fracaso virológico o inmunológico y es necesario plantearse un cambio de tratamiento³.

Se considera que existe fracaso terapéutico si se evidencia progresión de la enfermedad, por parámetros clínicos, inmunológicos y virológicos, si existe toxicidad, intolerancia o mala adherencia al tratamiento actual. El fracaso del tratamiento o la aparición de nuevos datos o tratamientos menos tóxicos y más eficaces que el actual son indicaciones de cambio de la terapia⁹⁴. Cuando un

régimen de tratamiento falla, es importante solucionar los problemas de adherencia si los hubiera e incluir, al menos, dos fármacos nuevos para el paciente tras el estudio de resistencias. Antes de cambiar un régimen terapéutico hay que considerar las siguientes premisas: procurar introducir un mínimo de dos medicamentos nuevos, que la nueva combinación será sinérgica, los fármacos introducidos no deben presentar resistencia cruzada con los tomados anteriormente ni toxicidad cruzada, si la intolerancia fue el motivo del cambio.

El nuevo fármaco se elegirá en función de la disponibilidad de formulaciones infantiles, complejidad, efectos adversos e interacciones¹⁴⁰. La interrupción de la terapia no está recomendada actualmente, ya que se asocia a aumento del riesgo de progresión¹⁴¹.

Momento de inicio del tratamiento.

No existen ensayos clínicos aleatorizados sobre cuándo iniciar el TARGA en niños⁵⁹. Las diferentes guías existentes^{36, 59, 94} proponen que el tratamiento se inicie basándose en la edad y el estadio inmunológico y clínico. No existe consenso en cuanto a puntos de corte de carga viral, en niños, específicos para el inicio de la terapia. La mayoría de los clínicos recomiendan iniciarla en niños menores de 12 meses, por el elevado riesgo de encefalopatía y progresión (por encima del 10% cuando los CD4 disminuyen por debajo del 35%)¹⁴². Por la misma razón, se ha considerado indicación de tratamiento una carga viral superior a 10^6 copias/ml.

A partir del primer año, está indicado el tratamiento en niños en categoría clínica B o C y CD4 menores del 20%, o menores del 25% para el grupo de niños entre 1 y 3 años. No existe un punto de corte de carga viral a partir del cual exista una indicación de iniciar la terapia pero se recomienda iniciarla en niños con carga viral elevada (> 100.000 copias/ml). Por debajo de este nivel, en el niño asintomático o con pocos síntomas y CD4 superiores al 20%, se podría diferir el tratamiento y vigilar estrechamente^{94, 143}.

1.9.4 CUMPLIMIENTO TERAPÉUTICO O ADHERENCIA.

La terapia múltiple supone un reto para el paciente y su familia. La administración de varios fármacos más de una vez al día suele ser problemática. Un factor fundamental que influye en la eficacia del TARGA es la adherencia al tratamiento o cumplimiento terapéutico¹⁴⁴, sobre todo para pacientes pediátricos en los que el mal cumplimiento es la causa más frecuente de fracaso terapéutico¹⁴⁵.

Si no se consigue una adherencia adecuada, aumenta la posibilidad de aparición de resistencias¹⁴⁶. Se estima que para conseguir un adecuado control de la replicación viral, se precisa un cumplimiento terapéutico superior al 95%¹⁴⁷.

El cumplimiento incorrecto puede producirse por omitir alguna toma de una o varias medicaciones, no respetar el horario recomendado, disminuir o aumentar las dosis prescritas, no ajustarse a las recomendaciones en relación con las comidas o realizar abandonos periódicos⁹⁴.

Medir la adherencia al tratamiento es necesario si se quiere optimizar el manejo terapéutico. Teóricamente, el máximo cumplimiento terapéutico estaría reflejado por la relación comprimidos tomados/comprimidos prescritos y el ideal sería del 100%¹⁴⁸.

La correcta adherencia depende del tipo de tratamiento, el equipo sanitario y el paciente y su familia. Cuanto más compleja es la pauta de tratamiento, menor es la tasa de cumplimiento¹⁴⁹. Otros estudios también relacionan la falta de adherencia con el mal sabor de algunos fármacos¹⁵⁰. La edad es, además, otro factor importante. De modo que el cumplimiento es peor en menores de 12 meses por la dificultad de administrar la medicación¹⁵¹ y en adolescentes¹⁵².

De todo esto, se deduce la importancia de una evaluación rutinaria de la adherencia en el seguimiento de estos niños, ya que es un factor fundamental que determina la eficacia.

Existen diferentes métodos para controlar el cumplimiento: determinación de concentraciones plasmáticas del fármaco^{153, 154}, la monitorización electrónica¹⁵⁵, la entrevista estructurada o cuestionario^{156, 157} y el recuento de medicación de los registros de farmacia¹⁵⁵. Ninguno de ellos tiene una fiabilidad del 100%, por lo que se recomienda utilizar varios simultáneamente^{153, 158}.

La base de datos de farmacia es un instrumento útil, ya que da una buena aproximación a los datos reales de dispensación de fármacos y, además, proporciona datos de gasto sanitario. De modo que esta metodología permite una aproximación a la adherencia de forma global. Su inconveniente es que, a pesar de realizarse la prescripción y la dispensación del medicamento, no se tiene la seguridad de que el paciente cumpla realmente el tratamiento en la dosis y forma adecuada.

La información del propio paciente de su adherencia o comportamiento puede recogerse de muchas formas: retorno de envases¹⁵⁹, información proporcionada por el propio paciente sobre comprimidos olvidados en un periodo de tiempo¹⁶⁰ y cuestionarios validados como el de Morisky-Green¹⁶¹, validado en su versión española por Val Jiménez y cols¹⁶².

Se han desarrollado diversos dispositivos electrónicos como MEMS (Medication event monitoring system), que registra el momento en el que el paciente abre el frasco de la medicación¹⁶³ o un dispensador electrónico de medicación desarrollado para mejorar la adherencia en la población geriátrica¹⁶⁴.

La determinación sanguínea de los niveles plasmáticos de un fármaco sería la forma ideal de monitorizar la adherencia de un paciente. Sin embargo no siempre se realiza en la práctica clínica rutinaria y no es útil para cualquier tipo de medicamento.

1.9.5 EFECTOS SECUNDARIOS.

El tratamiento con fármacos antirretrovirales no está exento de efectos secundarios y éstos pueden comprometer significativamente la calidad de vida de los pacientes. Los fármacos antirretrovirales pueden producir diversas alteraciones importantes. Las más frecuentemente descritas incluyen el síndrome de lipodistrofia o redistribución de la grasa corporal (con una frecuencia muy variable entre el 2 y el 84%¹⁶⁵), hiperlipemia, alteración de la mineralización ósea, hiperglucemia y acidosis láctica¹⁶⁶⁻¹⁶⁸.

La toxicidad mitocondrial es poco frecuente aunque se han descrito casos muy graves en niños^{169, 170}.

Las alteraciones óseas descritas, asociadas al tratamiento antirretroviral, incluyen osteonecrosis^{171, 172}, osteopenia y osteoporosis¹⁷³.

Algunas de estas alteraciones se han atribuido al efecto de grupos farmacológicos concretos⁹⁴. ITAN se asocian con atrofia grasa periférica y toxicidad mitocondrial. ITNAN son responsables del aumento de lípidos, sobre todo de colesterol, aunque en menor grado que los IP. Los IP son los principales responsables de la hipertrofia grasa central, aumento de colesterol, LDL y triglicéridos, y de la resistencia periférica a la insulina. Estos efectos pueden ser concentración dependientes¹⁷⁴. El IP con menor efecto sobre los lípidos, disponible en niños, es, posiblemente, nelfinavir¹⁷⁵. Así mismo se ha descrito que los IP e ITAN tienen acción sinérgica en el desarrollo del síndrome de lipodistrofia^{81, 82, 176} y que el TARGA es un factor de riesgo de disminución de mineralización ósea¹⁶⁶.

El síndrome de lipodistrofia se caracteriza por una redistribución de la grasa corporal acompañada, habitualmente, por alteraciones metabólicas^{177, 178}. Puede manifestarse como lipoatrofia o como acumulación grasa central o visceral¹⁷⁹. Sus características epidemiológicas y clínicas se han estudiado en adultos^{180, 181} pero existen pocos estudios en niños y con escaso número de pacientes^{81, 82}. El estudio

de la lipodistrofia en niños es complicado por los cambios dinámicos en la composición corporal que ocurren durante la infancia y adolescencia. No todos los niños con redistribución grasa tiene dislipemia y viceversa⁸². Se estima que la prevalencia de esta entidad oscila entre el 18 y el 33%^{81, 167} y que aumenta a medida que aumenta el tiempo de exposición al TARGA^{81, 182} y su presencia se ha asociado con bajo porcentaje de linfocitos T CD4+ y con alta carga viral⁸¹. Se ha asociado, principalmente, con el uso de estavudina e inhibidores de la proteasa, probablemente por alteraciones en el metabolismo del ácido retinoico^{82, 183, 184}. Algunos estudios han hallado una mayor prevalencia de lipodistrofia en mujeres, sin que el mecanismo fisiopatológico potencial quedara aclarado^{185, 186} y un empeoramiento del cuadro durante la pubertad^{182, 187}. Este síndrome produce un impacto psicosocial negativo, principalmente en adolescentes y tiene un probable efecto a largo plazo en el riesgo futuro de aterosclerosis y de infarto de miocardio^{175, 188}.

Todas estas alteraciones metabólicas también pueden asociarse con factores no relacionados con el TARGA como la propia acción del virus¹⁶⁶, la coinfección por VHC o VHB que aumenta la incidencia de alteraciones hepáticas¹⁸⁹, el estadio clínico o inmunológico¹⁹⁰, la presencia de otras enfermedades de base¹⁸⁹, la edad y el estado de maduración sexual⁹⁴.

A pesar de las diferencias en el índice de masa corporal, la composición grasa y la secreción hormonal, no se han hallado diferencias significativas entre varones y mujeres en la incidencia de estas alteraciones, salvo la acidosis láctica y reacciones de hipersensibilidad que se han descrito más frecuentemente en mujeres¹⁶⁵. Existen diferencias en la incidencia de efectos adversos según la raza o etnia, probablemente debidas a polimorfismos genéticos en el sistema P450¹⁹¹.

Otra alteración relacionada con el TARGA es el síndrome de reconstitución inmune, el tratamiento consigue una supresión de la replicación viral y una mejoría o

reconstitución inmunológica. Debido a estos cambios, durante las primeras 3-6 semanas del tratamiento, pueden manifestarse infecciones oportunistas que, previamente, se hallaban en fase latente^{33, 192}.

1.10 PRONÓSTICO DE LA INFECCIÓN POR VIH.

En los primeros años tras su descripción, el pronóstico de la enfermedad era malo⁴¹. La probabilidad de sobrevivir a los 2 años del diagnóstico de la infección por VIH no era en general superior al 30-50%, y a los 3 años era inferior al 10-20%.

La edad, el sexo, la actividad de riesgo a través de la cual se adquirió la infección por el VIH-1 y la forma de presentación influyen en el pronóstico. Actualmente, la mortalidad pediátrica por VIH ha descendido un 80-90% tras la introducción de los inhibidores de la proteasa¹⁹³ y del TARGA^{61, 194-196}, convirtiendo la infección por VIH en una enfermedad crónica.

El análisis realizado por Dunn et al.¹⁴² permite estimar el riesgo probable de progresión clínica a SIDA o muerte a los 6 y 12 meses en niños infectados no tratados o en monoterapia. El porcentaje de linfocitos T CD4+ y la carga viral son predictores de progresión independientes, pero el porcentaje de CD4+ es más potente.

Durante el primer año de vida es difícil interpretar valores de carga viral altos porque hay un solapamiento entre la carga viral de los niños que van a progresar rápidamente y los que no van a progresar a SIDA¹⁹⁷. Los datos existentes indican que el valor basal del porcentaje de CD4+ y la carga viral, así como los cambios en la evolución de estos parámetros, son marcadores más precisos en el pronóstico de la enfermedad^{21, 142}.

Existen estimaciones que permiten calcular el riesgo probable de progresión clínica de un paciente no tratado o en monoterapia, conociendo el porcentaje de linfocitos

T CD4+, los valores de carga viral y la edad¹⁴². Esta estimación procede de un metaanálisis de datos longitudinales de 3.941 niños seguidos en 8 estudios de cohorte y 9 estudios aleatorizados en Europa y Estados Unidos¹⁴². Si se utiliza este sistema, se debe realizar una interpretación cuidadosa, ya que es probable que la progresión a SIDA sea menor en los niños controlados actualmente que los que se analizaron hace 10-15 años⁹⁴.

1.11 MONITORIZACIÓN TERAPÉUTICA DE MEDICAMENTOS.

Se conoce como monitorización terapéutica de medicamentos (MTM) a la estrategia mediante la cual la dosis de un fármaco se modifica en función de su concentración plasmática, para mantenerla dentro de unos límites terapéuticos previamente definidos, con el objetivo de mejorar la eficacia terapéutica y evitar la toxicidad⁶⁴.

Esta aproximación se ha utilizado en medicina clínica, desde hace más de tres décadas, para fármacos como fenitoína, digoxina, litio, antibióticos y teofilina, entre otros¹⁹⁸⁻²⁰⁰. Su introducción en la práctica clínica habitual ha permitido reducir la mortalidad, morbilidad y efectos adversos de distintos medicamentos. En los últimos años, la evidencia emergente de asociación entre la exposición al fármaco antirretroviral (ARV) y la eficacia antiviral y toxicidad, han focalizado la atención en el papel de la monitorización de niveles plasmáticos para la optimización del TARGA.

Existen unos criterios para la aplicación de la MTM en la práctica clínica. Estos criterios, descritos por Spector en 1988²⁰¹, son:

- Disponibilidad de ensayos clínicos sobre farmacocinética del fármaco.
- Alta variabilidad interpaciente de las concentraciones plasmáticas.
- Margen estrecho entre la concentración tóxica y la concentración eficaz.

- Existencia de estudios que definan los rangos terapéuticos y tóxicos del fármaco.

Estos criterios se han ido ampliando y adaptando y, actualmente, se consideran como criterios necesarios para que un fármaco sea candidato a realizar MTM, lo siguientes:

- Datos farmacocinéticos disponibles para el fármaco.
- Alta variabilidad interpaciente en los niveles plasmáticos.
- Baja variabilidad intrapaciente.
- Alta asociación entre el nivel en plasma y la concentración en el lugar de acción y relación farmacodinámica entre el nivel plasmático y la respuesta terapéutica.
- Relación farmacodinámica entre el nivel plasmático y la toxicidad.
- Margen terapéutico estrecho.
- Evidencia de que los niveles pueden manipularse para conseguir unos niveles dentro de la ventana terapéutica.
- Evolución del paciente a largo plazo, comprometida por la falta de efecto del fármaco.
- Disponibilidad de técnicas de medición de las concentraciones plasmáticas.
- Existencia de un rango terapéutico establecido.
- Buena relación coste-beneficio, posibilidad de obtener un resultado rápido, con poca muestra.

1.12 ANTIRRETROVIRALES COMO FÁRMACOS SUSCEPTIBLES DE MONITORIZACIÓN TERAPÉUTICA

1.12.1 DATOS FARMACOCINÉTICOS DISPONIBLES.

Existen múltiples estudios sobre las características farmacocinéticas de los distintos ARV.

Los ITAN se metabolizan en el interior de la célula para dar lugar a la forma trifosfato, que es la biológicamente activa. Un estudio de Fletcher et al.²⁰² demostró una relación significativa entre las concentraciones intracelulares de zidovudina trifosfato y lamivudina trifosfato y el aumento de células CD4 y el descenso de la carga viral, relación que no se ha demostrado con las concentraciones plasmáticas de estos fármacos⁶⁹. De modo que, pueden existir niveles plasmáticos bajos con niveles intracelulares eficaces. La medición de la forma trifosfato intracelular es muy compleja y cara y requiere una muestra de sangre abundante. Por este motivo, la MTM tiene un valor limitado en este grupo de fármacos.

En cuanto a los ITNAN y a los IP, se dispone de datos específicos de la farmacocinética de cada uno de ellos. Se metabolizan, principalmente, en el hígado por el citocromo hepático P450 y pueden afectar al aclaramiento de muchas drogas, incluyendo el de ellas mismas^{203, 204}. Los metabolitos plasmáticos son los responsables de la acción farmacológica, a diferencia de los ITAN^{205, 206}, por lo que la MTM puede ser útil en estos grupos farmacológicos. Dado que la relación entre el nivel de nelfinavir y de su metabolito M8 suele mantenerse constante, monitorizar las concentraciones de M8, además de las de nelfinavir, no parece ser necesario²⁰⁷. La mayoría de estos fármacos son lipofílicos y se asume que entran a la célula por difusión pasiva a través de la bicapa lipídica de la membrana. Algunas proteínas transportadoras transmembrana, como la glicoproteína P (localizada en tracto intestinal superior, hepatocitos, células tubulares renales, barrera hematoencefálica y placenta²⁰⁸), extraen fármaco de las células de forma activa e influyen en la variabilidad de la concentración intracelular del mismo. Los genes que codifican estas proteínas (MDR1 y MDR3) son polimórficos, de modo que condicionan una diferente expresión y función en los distintos individuos^{209, 210}.

Se acepta que la potenciación de IP con ritonavir no reduce la utilidad de la MTM⁶⁹.

En lo que se refiere a los inhibidores de la fusión, el enfuvirtide tiene una farmacocinética única sin interacciones con el sistema CYP450 y con pocas interacciones farmacológicas y dietéticas, ya que es de administración subcutánea. A penas existen estudios sobre su monitorización plasmática.

En cuanto al parámetro farmacocinético ideal, ningún estudio ha comparado directamente C_{max} , C_{min} y ABC como predictores de la eficacia del tratamiento.

1.12.2 VARIABILIDAD INTERPACIENTE.

Para que la MTM tenga utilidad, los niveles del fármaco deben variar entre pacientes que reciban la misma dosis. Si las concentraciones plasmáticas fueran predecibles a partir de la dosis recibida, la MTM no tendría sentido.

Los infectados por VIH constituyen una población heterogénea. Variables como el peso, la absorción intestinal, la función hepática y renal, la adherencia a horarios y dieta y las interacciones, pueden ampliar la variabilidad de los niveles plasmáticos. Por otro lado, diversos estudios, como los realizados por Gatti et al.^{211, 212}, sugieren que el estadio de la infección por VIH puede influir en la variabilidad farmacocinética.

Existen estudios que objetivan una alta variabilidad interpaciente en las concentraciones plasmáticas de ITNAN, tanto de nevirapina^{213, 214}, como de delavirdina²¹⁵ y de efavirenz^{216, 217}. Lo mismo sucede en cuanto a los IP^{64, 174, 218-223}.

La revisión realizada por Ribera et al. en 2005⁶⁴, demuestra que C_{min} , C_{max} y ABC varían más de 10 veces entre pacientes que reciben la misma dosis de ARV²²⁴. La amplia variabilidad interpaciente es debida, básicamente, a diferencias en la actividad de las isoenzimas del sistema citocromo P450 y de las proteínas transportadoras responsables de la absorción y metabolismo de IP e ITNAN. Incluso cuando se asocia ritonavir para potenciar la acción de otros IP, la variabilidad interpaciente es amplia²²⁵⁻²²⁷.

1.12.3 VARIABILIDAD INTRAPACIENTE.

Para que la MTM resulte de utilidad, la variabilidad intrapaciente en los niveles plasmáticos del fármaco, debe ser baja. De modo que, una determinación única de nivel plasmático tenga un valor considerable. Si la variabilidad intrapaciente es amplia, la monitorización es prácticamente imposible, porque determinar un nivel un día no aportaría información sobre el nivel del día siguiente.

Existen algunos estudios, como el de Nettles et al.²²⁸, que hallan una variabilidad intrapaciente del 15 al 54%, pero sólo estudiaron 10 pacientes y no realizaron control de la adherencia al tratamiento.

A pesar de que la variabilidad intrapaciente pueda aumentar por factores como el ritmo circadiano o el ciclo menstrual²²⁹, múltiples estudios han valorado estos factores y encuentran una concentración de IP e ITNAN en el mismo paciente, relativamente constante^{69, 174, 204, 216}. Por tanto, una determinación simple de estas drogas nos daría información fiable sobre las concentraciones mantenidas por el paciente.

1.12.4 ALTA ASOCIACIÓN ENTRE EL NIVEL EN PLASMA Y LA CONCENTRACIÓN EN EL LUGAR DE ACCIÓN Y RELACIÓN FARMACODINÁMICA ENTRE EL NIVEL PLASMÁTICO Y LA RESPUESTA TERAPÉUTICA.

Si la correlación entre el nivel plasmático y la respuesta clínica no fuera buena, la MTM no resultaría útil. Éste parece ser el caso de los ITAN, para los que no se ha establecido relación clara entre el nivel plasmático y la respuesta a la terapia. Los ITAN son pro-fármacos que se activan en el interior de la célula por acción de las quinasas y se convierten en derivados trifosfato activos. La determinación de la concentración intracelular de ITAN-trifosfato podría ser más útil para predecir la

respuesta al tratamiento²⁰², pero se requieren técnicas muy complejas, que sólo están disponibles en algunos laboratorios de investigación⁶⁴. Además, esta medición presenta una variabilidad interpaciente e intrapaciente tan amplia que la invalida para el uso clínico²³⁰. Se están desarrollando nuevos ensayos enzimáticos para medir el nivel de lamivudina-trifosfato²³¹ que podrían cambiar el panorama en el futuro.

A diferencia de los ITAN, los IP e ITNAN, no requieren metabolización intracelular para ser activos, difunden libremente por la membrana celular y la concentración de fármaco libre en plasma refleja la concentración en el interior de la célula²⁰⁵, como demuestra el estudio de Colombo et al., con 133 pacientes²³².

Numerosos estudios muestran la relación entre nivel plasmático de IP y la respuesta terapéutica^{109, 219, 223, 233-239}. Dentro del estudio VIRADAPT²⁴⁰, se realizó un subestudio que incluyó a 81 pacientes, de los que se obtuvieron muestras plasmáticas seriadas para determinación de niveles de IP²³³. Los pacientes se asignaron aleatoriamente a estudio genotípico o determinación de los niveles plasmáticos de IP. El análisis de regresión lineal demostró una correlación significativa entre los niveles de cada uno de los IP y la carga viral. Así, en los pacientes con concentraciones definidas como óptimas, la correlación con la disminución de la carga viral fue del 68% (55/81) en relación con los que tenían concentraciones subóptimas 32% (26/81). El análisis multivariante demostró que a mayor nivel plasmático de IP, menor carga viral y menor tasa de aparición de resistencias.

Lo mismo sucede para los ITNAN, en los que se ha hallado asociación entre niveles plasmáticos y descenso de carga viral, aumento de la cifra de linfocitos T CD4+ y descenso del tiempo transcurrido hasta lograr una carga viral indetectable^{220, 241-243}. Como el estudio de Veldkamp et al.²⁴¹, que analizaba la relación entre las concentraciones plasmáticas de nevirapina y la respuesta viral, entre los pacientes

incluidos en un ensayo aleatorizado, doble ciego, llevado a cabo en Italia, Holanda, Canadá y Australia (INCAS)²⁴². Concluyeron que los niveles plasmáticos de nevirapina se asociaban a mayor tasa de eliminación viral y a una respuesta viral más precoz.

1.12.5 RELACIÓN FARMACODINÁMICA ENTRE EL NIVEL PLASMÁTICO Y LA TOXICIDAD.

Son escasos los datos que correlacionan, de forma significativa, estos dos aspectos y no existe relación demostrada entre disfunción hepática, lipodistrofia, alteraciones lipídicas y concentraciones plasmáticas elevadas de IP o ITNAN²⁴⁴.

Otro tipo de reacciones adversas como el exantema parecen más relacionadas con la idiosincrasia del individuo que con los niveles plasmáticos.

Existen, sin embargo, algunos datos que relacionan toxicidad con niveles elevados.

Aunque algunos tipos de toxicidad digestiva de los IP se deben a acción local en la mucosa, como la acción de nelfinavir⁷⁰, se ha observado una relación entre niveles plasmáticos altos de fármacos y toxicidad gastrointestinal, por ejemplo con ritonavir.

Existen estudios que sugieren, por ejemplo, una asociación entre concentraciones elevadas de indinavir y alteraciones urológicas²⁴⁵, amprenavir y cefalea y parestesias orales⁶⁹, ritonavir y efectos neurológicos y gastrointestinales²⁴⁶, efavirenz y efectos neurológicos²¹⁶ y nevirapina y hepatotoxicidad²⁴⁷, entre otros²⁴⁸⁻

250 .

1.12.6 MARGEN TERAPÉUTICO ESTRECHO.

Los fármacos con margen terapéutico ancho pueden administrarse fácilmente a una dosis fija, efectiva, sin alcanzar niveles tóxicos⁶⁴.

Lógicamente, la MTM tendrá sentido en casos en los que la diferencia entre nivel plasmático efectivo y tóxico sea pequeña. Ya que, en estos casos, es importante

mantener las concentraciones plasmáticas dentro de los estrechos márgenes terapéuticos para evitar tanto la toxicidad como la falta de efecto antirretroviral.

1.12.7 EVIDENCIA DE QUE LOS NIVELES PUEDEN MANIPULARSE PARA CONSEGUIR UNOS NIVELES DENTRO DE LA VENTANA TERAPÉUTICA.

Para la aplicación clínica de la MTM, son necesarios estudios aleatorizados que validen esta estrategia terapéutica.

Se han realizado estudios, la mayoría en adultos, que ponen a prueba la utilidad de la MTM en la terapia antirretroviral y que demuestran que el ajuste de dosis de ARV, en función de la monitorización de los niveles plasmáticos, es efectivo.

El estudio AIDS Therapy Evaluation Project Netherlands (ATHENA)²⁵¹, de 2003, es un ensayo clínico en el que un grupo de 147 pacientes *naïve* en tratamiento con nelfinavir o indinavir, se aleatorizaron a controles clínicos habituales o controles clínicos basados en MTM. Tras un año de seguimiento, el 39,7% de los pacientes no controlados con MTM modificaron el tratamiento, frente al 17,4% de los pacientes controlados con MTM. Esto se debía a mayor frecuencia de fallo terapéutico y de efectos adversos en el grupo no controlado con MTM. En relación a la eficacia virológica, la medición de niveles resultó efectiva, presentando los pacientes con monitorización de los niveles terapéuticos al año de seguimiento una carga viral de 500 copias/ml en el 78,2% frente al 55,1% en el grupo control.

Otro estudio similar, es el realizado por Fletcher et al. en Estados Unidos, en 2002²⁵², que incluye 40 pacientes, de entre 18 y 60 años de edad, en tratamiento con indinavir, zidovudina y lamivudina. El grupo monitorizado con MTM, alcanzaba con mayor frecuencia el nivel plasmático del rango adecuado y la carga viral indetectable (94% en el grupo aleatorizado a MTM, frente al 53% en el grupo control).

El estudio PharmAdapt²⁵³, realizado en Francia en 2002, evalúa la utilidad de la modificación del tratamiento basándose en las resistencias genotípicas y la MTM, en pacientes experimentados, frente a la basada únicamente en las resistencias genotípicas. Incluyó 183 pacientes y el descenso de la carga viral fue mayor en el grupo de la MTM, aunque no hallaron diferencias significativas, probablemente porque las concentraciones plasmáticas se determinaban en la semana cuatro del estudio y no se realizaban modificaciones hasta la semana ocho.

Otro grupo francés, publicó los resultados del estudio GENOPHAR en 2004²⁵⁴, evaluando los beneficios de la MTM en pacientes experimentados con fallo del tratamiento. Aleatorizaron un total de 134 pacientes a monitorización de las resistencias genotípicas y la MTM o a monitorización de las resistencias genotípicas, exclusivamente. La disminución de la carga viral fue mayor en el grupo con MTM, aunque sin diferencias significativas.

El trabajo de Kakuda et al.²⁵⁵, con 24 pacientes, demostró que la MTM de indinavir es posible y segura.

Baede-van Dijk et al.²⁵⁶ realizó un estudio en 355 pacientes en tratamiento con nelfinavir, en el que demostró que el ajuste de las dosis según niveles plasmáticos es útil y que la medición de la concentración de M8 no es necesaria ya que no aporta datos adicionales.

En el estudio RADAR²⁵⁷, Torti et al. aleatorizaron 230 pacientes a monitorización de niveles plasmáticos de IP e ITNAN y a grupo control. Los pacientes monitorizados tuvieron mejor tasa de respuesta viral, aunque sin diferencias significativas, probablemente porque sólo realizaron ajuste del tratamiento conforme a la MTM en un grupo pequeño de pacientes.

Recientemente, Rendón et al.²⁵⁸ han publicado un trabajo en el que analizan la utilidad de la MTM en el manejo de pacientes con infección por VIH. Con un total de 137 pacientes adultos, demostraron que la MTM es útil para identificar

concentraciones plasmáticas tóxicas de ITNAN y subterapéuticas de IP y que el ajuste de dosis posterior a la monitorización disminuye la toxicidad y mejora la respuesta al tratamiento.

Además de éstos, otros múltiples estudios que revisan la literatura existente respecto a la MTM de la terapia ARV, concluyen que es de utilidad en el manejo de los pacientes infectados por VIH, como los realizados por Back en 2001²⁵⁹, Burger en 2002²⁶⁰, Arrizabalaga en 2002²⁴⁴, van Heeswijk en 2002²⁶¹, Justesen en 2006²⁶², Morse en 2006³⁴ y Dahri y Ensom²⁶³ en 2007.

1.12.8 EVOLUCIÓN DEL PACIENTE A LARGO PLAZO, COMPROMETIDA POR LA FALTA DE EFECTO.

En la infección por VIH, es evidente que el pronóstico de los pacientes depende, de forma primordial, de la eficacia del tratamiento.

El objetivo del tratamiento es suprimir la replicación viral lo máximo posible y tanto tiempo como sea posible^{206, 220, 264}. Son múltiples los estudios que demuestran una asociación entre la respuesta al tratamiento y el descenso de la morbi-mortalidad de esta infección^{18, 41, 61}.

1.12.9 DISPONIBILIDAD DE TÉCNICAS DE MEDICIÓN DE LAS CONCENTRACIONES PLASMÁTICAS.

Existen técnicas que nos permiten determinar de forma precisa la concentración plasmática o sérica de los IP e ITNAN. Hay distintos tipos: cromatografía líquida, cromatografía de iones, cromatografía de gases y espectrometría de masas.

La cromatografía es un método físico de separación basado en la distribución de los componentes de una mezcla entre dos fases inmiscibles, una fija o estacionaria y otra móvil²⁶⁵.

En la cromatografía líquida, la fase móvil es un líquido que fluye a través de una columna que contiene a la fase fija. Con el objeto de aumentar la efectividad en las separaciones, el tamaño de las partículas de fase fija se fue disminuyendo hasta el tamaño de los micrones, lo cual generó la necesidad de utilizar altas presiones para lograr que fluyera la fase móvil. De esta manera, nació la técnica de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), que requiere de instrumental especial que permita trabajar con las altas presiones requeridas²⁶⁶.

La fase móvil puede ser un solvente puro o una mezcla de solventes. Una vez se han separado los componentes, pasan por un detector que produce una señal eléctrica proporcional a la cantidad de materia y esa señal es enviada al registrador que realiza un gráfico de intensidad en función del tiempo, denominado cromatograma. Los detectores se basan en una propiedad de la sustancia a separar, por ejemplo, el detector ultravioleta (HPLC-UV), que determina las longitudes de onda de cada componente. Idealmente, se trata de picos gaussianos y cada pico corresponde a un componente de la muestra original (carácter cualitativo). El integrador calcula el área correspondiente a cada pico, la cual es proporcional a la cantidad de sustancia (carácter cuantitativo). De modo que es posible determinar simultáneamente la concentración de varios fármacos en una cromatografía simple.

La cromatografía iónica es similar. En esta técnica la fase estacionaria es una resina de intercambio iónico, de manera que se separan los iones y las moléculas basándose en sus propiedades de carga. El resultado son unos cromatogramas donde la posición de los picos nos indica el ión presente y su área nos indica qué cantidad existe de dicho ión.

En la cromatografía de gases, la muestra se volatiliza. La fase estacionaria puede ser un líquido (cromatografía gas-líquido: GLC) o un sólido (cromatografía gas-sólido: GSC).

La espectrometría de masas (MS) permite la separación de partículas moleculares o atómicas por su diferente masa. Puede utilizarse para identificar los diferentes elementos químicos que forman un compuesto o para determinar el contenido isotópico de un único elemento. Tras la ionización de la muestra y la aceleración de los iones por un campo eléctrico, éstos se dispersan según su masa y carga. Con frecuencia se encuentra como detector de un cromatógrafo de gases, en una técnica híbrida (GC-MS).

Estas técnicas se han desarrollado para la determinación de concentraciones de ARV en plasma. La más utilizada es la HPLC-UV pero también son útiles otras como la cromatografía de gases combinada con espectrometría de masas (GC-MS)²⁶⁷, el enzimoimmunoensayo (EIA)²⁶⁸ o la cromatografía líquida combinada con la espectrometría de masas en tandem (LC-MS-MS)²⁶⁹ que, aunque más rápida, es más compleja y cara^{270, 271}. Las técnicas más desarrolladas permiten la detección simultánea de, incluso, 16 fármacos distintos^{272, 273}.

Es importante que los métodos de medición cuantitativa de ARV estén sujetos a controles externos de calidad, esto permitirá la mejor comparación entre estudios distintos²⁷⁴. Los laboratorios que determinan niveles de ARV, deberían cumplir unas normas de calidad. Por ejemplo, el laboratorio farmacológico del “AIDS Clinical Trials Group” (ACTG), que sigue las “Clinical Laboratory Improvement Amendments” (CLIA) establecidas en 1988²⁷⁵, o el “International Interlaboratory Quality Control Program for Therapeutic Drug Monitoring”, iniciado en 1999²⁷⁶.

Se ha investigado la utilidad de determinar la concentración de fármaco intracelular²⁷⁷ y de fármaco no unido a proteínas²⁷⁸. Algunos estudios como el KALEPHAR²⁷⁹, demuestran una relación de la actividad antiviral con los niveles intracelulares de IP, pero todavía no se ha demostrado su utilidad clínica, ya que las técnicas de medición son muy complejas.

1.12.10 EXISTENCIA DE UN RANGO TERAPÉUTICO ESTABLECIDO.

A pesar de la abundante literatura sobre la relación entre el nivel plasmático de ARV y la respuesta clínica, el rango terapéutico de IP e ITNAN en diferentes situaciones no está claramente definido.

Los datos de la literatura nos permiten generar curvas concentración-tiempo que incluyen los percentiles 10, 25, 50, 75 y 90 de las concentraciones de los principales regímenes terapéuticos con IP potenciados o no y con ITNAN²⁸⁰. Estas curvas permiten extrapolar, con aceptable precisión, el resultado de una muestra obtenida en cualquier momento del intervalo terapéutico. Sin embargo, este método requiere un conocimiento preciso del momento de la toma del fármaco y de la extracción de la muestra.

Existen diversos estudios que establecen rangos de niveles plasmáticos de ARV que se consideran eficaces y con poca toxicidad (referidos a la C_{valle}). Estos rangos terapéuticos se establecen con curvas concentración-eficacia virológica y concentración-toxicidad^{216, 217, 251, 281}.

Más recientemente, los niveles diana de algunos ARV se han definido en base a estudios farmacocinéticos que han demostrado que esos rangos son suficientes para suprimir cepas salvajes de VIH³⁴. La interpretación de estos resultados debe realizarse por un experto. Por otro lado, se han desarrollado programas informáticos que ayudan a la interpretación de los niveles plasmáticos²⁸², pero no han sido validados.

Otra cuestión sería, qué parámetro farmacocinético predice mejor la eficacia clínica de IP o ITNAN: C_{min} , C_{valle} , ABC o C_{max} . Es evidente que la C_{valle} es el parámetro farmacocinético más ampliamente estudiado en la literatura y el que más se asocia a la eficacia virológica, estando relacionado también con la toxicidad^{64, 283}.

1.12.11 BUENA RELACIÓN COSTE-BENEFICIO, POSIBILIDAD DE OBTENER UN RESULTADO RÁPIDO, CON Poca MUESTRA.

No existen estudios específicos, que investiguen la relación coste-beneficio de la MTM para antirretrovirales. Sin embargo, muchas de las intervenciones realizadas en el seguimiento de pacientes con VIH tampoco poseen una relación coste-beneficio demostrada, como los test de resistencia fenotípica. El coste de la MTM de un antirretroviral es de 100 dólares, frente a los 800-1200 dólares de una prueba de resistencia fenotípica²⁸⁴.

El estudio de Touw sobre la relación coste-beneficio de la MTM²⁸⁵, basado en una revisión sistemática de la literatura, llega a la conclusión de que la MTM es rentable para ARV, sobre todo en el caso de nelfinavir. Es clara, por tanto, la utilidad de la MTM en el seguimiento de pacientes con infección por VIH y el coste de determinar una concentración plasmática de un ARV es considerablemente menor que el de otras pruebas que se realizan de rutina en pacientes VIH.

De los parámetros farmacocinéticos determinados en la MTM, C_{min} es, probablemente, el más útil en relación coste-beneficio. Por ejemplo, se ha calculado que determinar C_{min} de un IP o ITNAN en un laboratorio externo cuesta unos 20-30 euros⁶⁴.

1.13 INDICACIONES DE MTM.

Los datos comentados con anterioridad, demuestran que los ARV son fármacos que cumplen las condiciones de aplicabilidad de la MTM. Sin embargo, la monitorización de este tipo de tratamiento no se realiza de rutina en la práctica clínica.

Distintos grupos que han evaluado la MTM de los ARV, han establecido unas situaciones en las que la MTM es útil y podría utilizarse de forma rutinaria⁷⁰.

En Octubre del año 2000, un grupo de expertos farmacólogos y virólogos se reunieron en Italia para discutir la situación actual y el futuro de la MTM en el manejo de los pacientes con infección por VIH⁶⁹. Alcanzaron un consenso y consideraron que la MTM era una herramienta útil para mejorar la evolución de pacientes que recibían TARGA. Sin embargo, no pudieron recomendar su uso rutinario por dos motivos, los ensayos existentes no eran suficientemente rigurosos y la interpretación de los datos era compleja y requería la ayuda de expertos. Destacaron la importancia de incluir estudios de resistencia y de adherencia al utilizar la MTM en este campo.

Establecieron que las situaciones en las que la MTM puede estar indicada son las siguientes:

- Casos de toxicidad, en los que es conveniente una reducción de la dosis, sin perder eficacia.
- Falta de adherencia.
- Alteraciones en la absorción intestinal. La malabsorción debida a enteropatía por VIH y a infecciones intestinales asociadas, produce cambios en la farmacocinética de fármacos ARV administrados oralmente²⁸⁶.
- Alteración de la función renal o hepática. Aproximadamente el 30% de los pacientes con infección por VIH están coinfectados con el virus de la hepatitis C²⁸⁷. Diversos estudios han comprobado que, en pacientes coinfectados con VIH y VHC, aumentan los niveles plasmáticos de ARV y, por consiguiente, los efectos adversos^{284, 288}. No se han realizado ensayos clínicos que comparen los parámetros farmacocinéticos de la mayoría de los IP e ITNAN, en pacientes con coinfección por virus de la hepatitis. En cuanto a la disfunción renal, ni los IP ni los ITNAN suelen precisar modificación, la única excepción pudiera ser indinavir cuando se usa en asociación con ritonavir, ya que aumenta la proporción de indinavir excretado por orina en la forma libre.

- Pacientes con peso extremadamente alto o bajo.
- Sospecha de interacciones farmacológicas o combinaciones nuevas de ARV. Debido al metabolismo común de muchos fármacos, por la vía del citocromo P450, pueden existir interacciones múltiples en los regímenes de tratamiento ARV. También se han descrito interacciones con remedios de homeopatía, más utilizados en países en desarrollo²⁸⁹.
- Embarazo. Los cambios fisiológicos que ocurren durante el embarazo pueden alterar la farmacocinética de múltiples fármacos, incluidos los ARV^{290, 291}.
- Población pediátrica. La farmacocinética de los fármacos varía durante la edad pediátrica hasta que se alcanza la edad adulta²⁹².
- Fallos del tratamiento con persistencia de la viremia plasmática en pacientes con buena adherencia. La MTM permite distinguir si el fallo terapéutico es debido a una pobre adherencia o a una causa farmacocinética.

En España, se han realizado algunos estudios sobre la utilidad de la MTM para el manejo de pacientes con infección por VIH, en tratamiento con ITNAN e IP y todos sugieren que la MTM es útil²⁹³. Cabe destacar, el estudio de Rodríguez-Novoa et al.²⁹⁴, que incluye 56 pacientes, el de Morillo et al.²⁹⁵ con 36 pacientes, los realizados por Molto et al., con 85²⁹⁶ y 117 pacientes²⁹⁷, el de Gutiérrez et al.²⁹⁸, con 17 pacientes y el de Casado et al.²⁹⁹, con 59 pacientes. No obstante, ninguno de ellos se ha realizado en población pediátrica.

2. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

Existe una buena correlación, en pacientes adultos, entre la concentración plasmática de fármacos antirretrovirales y la eficacia terapéutica. Se ha demostrado, también, que existe una relación entre concentraciones elevadas de antirretrovirales y una mayor incidencia de reacciones adversas, mientras que las concentraciones bajas pueden acelerar el desarrollo de mutaciones que confieren resistencias a los fármacos antirretrovirales.

Las dosis de ARV en los regímenes terapéuticos en la edad pediátrica, se obtienen a partir de estudios en adultos. Sin embargo, debido a los cambios en el metabolismo de los fármacos durante el crecimiento, existe la posibilidad de que estas pautas no sean del todo aplicables a niños³⁰⁰.

El riesgo de concentraciones subóptimas y de supresión viral incompleta que conduzca al desarrollo de resistencias es un reto especialmente importante en la población pediátrica, que requiere un tratamiento a muy largo plazo. La variabilidad en la farmacocinética de ARV en niños infectados por VIH³⁰¹⁻³⁰³, hace que las concentraciones plasmáticas del fármaco sean impredecibles a partir de la dosis administrada. Por ello, muchos estudios sugieren la utilidad de la medición de niveles plasmáticos en el manejo de niños con infección por VIH tratados con TARGA.

La posibilidad de mejorar la respuesta terapéutica tras el ajuste de dosis según niveles plasmáticos comparado con las dosis fijas, hace necesario estudiar la utilidad de la medición de niveles plasmáticos de antirretrovirales (ITNAN e IP) en los niños con infección por VIH.

Objetivos:

1. El objetivo principal de este estudio es analizar la utilidad de la medición de los niveles plasmáticos de fármacos antirretrovirales en la práctica clínica habitual, en los niños infectados por el VIH y que reciben tratamiento antirretroviral de gran actividad con IP o ITNAN.

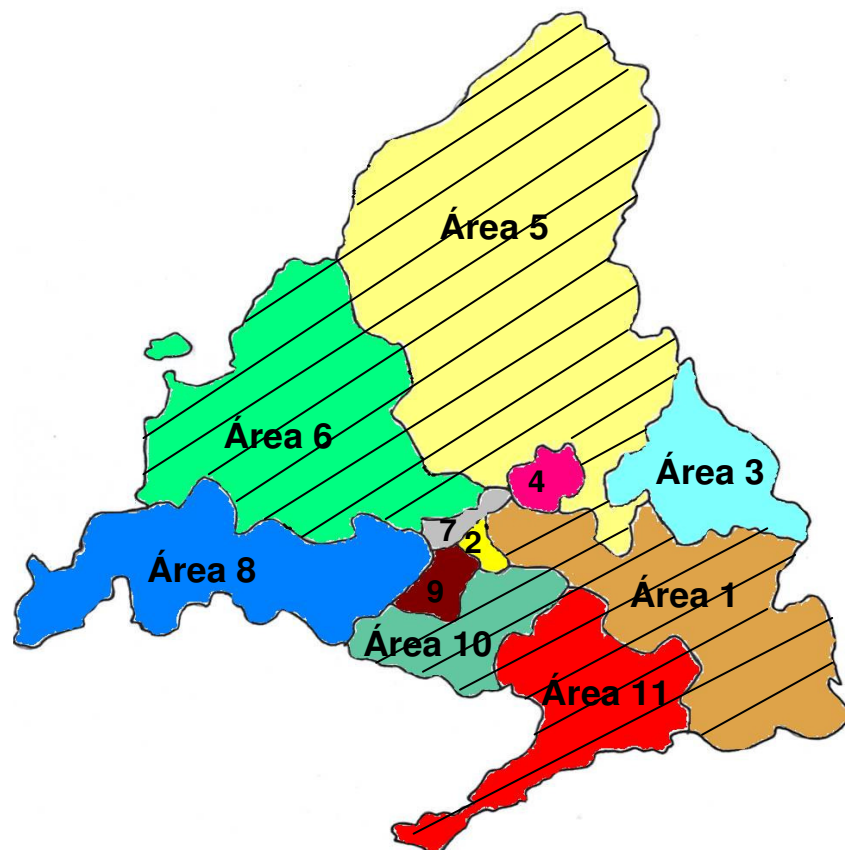
2. Analizar la relación entre niveles plasmáticos de ARV y la evolución viral e inmunológica.
3. Determinar la prevalencia de niveles infraterapéuticos en este grupo de pacientes y analizar la relación entre concentraciones plasmáticas infraterapéuticas de ARV y la falta de control de la replicación viral.
4. Describir la prevalencia de niveles supraterapéuticos y analizar su asociación con la presencia de toxicidad.
5. Identificar las posibles causas de los niveles plasmáticos inadecuados y del fracaso terapéutico.
6. Determinar la variabilidad interindividual en las concentraciones plasmáticas de ARV.
7. Determinar si existen variaciones en las concentraciones plasmáticas de los IP e ITNAN en diferentes grupos de edad y desarrollo puberal.
8. Evaluar la influencia del grado de cumplimiento terapéutico en los niveles plasmáticos de ARV.
9. Analizar la relación entre las concentraciones plasmáticas de ARV y la presencia de resistencias genotípicas.

3. SUJETOS DE ESTUDIO Y MÉTODOS

3.1 DISEÑO Y ÁMBITO DEL ESTUDIO

Se trata de un estudio observacional, prospectivo y multicéntrico. Incluye pacientes controlados en 5 Hospitales de Madrid: Hospital Universitario La Paz (centro de referencia para pediatría de áreas sanitarias 5 y 6 de Madrid), Hospital Universitario 12 de Octubre (centro de referencia del área 11), Hospital General Universitario Gregorio Marañón (centro de referencia del área 1), Hospital Carlos III (perteneciente al área 5, centro de referencia de Enfermedades Infecciosas) y Hospital Universitario de Getafe (centro de referencia del área 10).

Figura 6. Áreas sanitarias de Madrid. Las áreas rayadas son las incluidas en el estudio.



La extracción de los datos de las historias clínicas se realizó tras la obtención de un consentimiento informado (Anexo 1).

Se presentó el proyecto del trabajo de investigación ante la Comisión de Investigación de cada Hospital que lo aprobó para su presentación ante el Comité de Ética e Investigación Clínica. Dicho Comité decretó la viabilidad de este estudio y aprobó la realización del mismo.

3.1.1 SUJETOS DEL ESTUDIO.

Niños con infección por el VIH, adquirido por transmisión vertical, que cumplan criterios diagnósticos de infección por VIH y que sean controlados en los Hospitales participantes entre Marzo de 2006 y Junio de 2008. Los pacientes pediátricos se controlaron en los Servicios de Pediatría de cada uno de los Hospitales que intervienen en este estudio coordinado. Según cada objetivo del estudio, se seleccionaron distintos grupos de pacientes, dentro de la cohorte.

Criterios de inclusión.

Se incluyeron pacientes pediátricos (niños y niñas, con edades comprendidas entre 4 meses y 18 años), con infección por el VIH adquirida por transmisión vertical, controlados en los cinco Hospitales mencionados.

Los niños incluidos, debían estar recibiendo tratamiento antirretroviral de gran actividad (TARGA) que incluyera IP o ITNAN, durante un mínimo de 4 semanas.

Se seleccionaron los pacientes con independencia de la raza, la carga viral y el estadio inmunológico.

Criterios de exclusión.

Debido a los cambios farmacocinéticos que se producen en pacientes con alteración de la función hepática y renal, se excluyeron del estudio los niños con infección por virus de la hepatitis C (VHC) o B (VHB), con insuficiencia renal y que recibieran tratamiento concomitante con fármacos que hayan demostrado

interacciones importantes con ARV (tuberculostáticos, antifúngicos). Así mismo, se excluyeron los niños con TARGA de menos de 2 semanas de duración.

Para asegurar que los niños incluidos estaban infectados por VIH, debían tener al menos dos serologías positivas para anticuerpos VIH (al menos una de ellas a partir de los 18 meses de edad), por lo que se excluyeron los pacientes menores de 18 meses de edad en el momento de finalización del estudio (por la posibilidad de serología falsamente positiva por anticuerpos transmitidos por la madre).

3.1.2 VARIABLES A INCLUIR.

- 1) Historia clínica completa: datos de filiación, edad, sexo, antecedentes maternos (tratamiento con antirretrovirales, profilaxis de la transmisión vertical), edad de diagnóstico, estadio clínico/inmunológico en el momento del diagnóstico, categoría de la infección.
- 2) Examen clínico completo en el momento de entrada en el estudio (tiempo 0) y en cada control establecido para el seguimiento del niño. Peso, talla, superficie corporal, perímetro craneal, presencia de adenopatías, hepatomegalia, esplenomegalia, hipertrofia parotídea, lipodistrofia o de signos de infección relacionados con el VIH y/o el TARGA. Se consideró redistribución grasa la presencia de uno o más signos de los siguientes: lipoatrofia periférica (mejillas hundidas, ojos hundidos, arco cigomático prominente, extremidades con venas prominentes, huesudas, nalgas sin contorno ni grasa) o lipohipertrofia central (aumento de grasa en el tronco, giba de búfalo, aumento de las mamas).

El estadio puberal de Tanner se definió conforme a los criterios de Tanner y Whitehouse³⁰⁴.

- 3) Historia previa de tratamiento antirretroviral. Fecha de inicio de cada tratamiento, causa del cambio de tratamiento y tratamiento recibido, así como tratamiento antirretroviral en el momento de entrada en el estudio.
- 4) Las dosis de cada fármaco debían seguir las Guías para el uso de Agentes Antirretrovirales en Infección Pediátrica por VIH (Tabla 6)^{36, 129}.

Tabla 6. Dosis de IP e ITNAN establecidas para el tratamiento de la infección por VIH en niños.

Fármaco	Dosis
EFV	Entre 10 y 15 kg: 200 mg/24h 15-20 kg: 250 mg/24h 20-25 kg: 300 mg/24h 25-32,5 kg: 350mg/24h 32,5-40 kg: 400mg/24h >40 kg: 600 mg/24h
NVP	150 a 200 mg/m ² /12h
RTV	400 mg/m ² /12h Adolescentes y adultos: 600 mg/12h
SQV	Invirase: 600 mg/8h. Fortovase 1200 mg/8h ó 1600 mg/12h Con dosis baja de RTV (100mg/12h): 1000 mg/12h
NFV	25 a 30 mg/kg/8 h ó 55-60 mg/12h Adolescentes: 750 mg/8h ó 1250 mg/12h
APV	>12 años y > 50kg: 1200 mg/12h > 4 años: 20 mg/kg/12h (cápsulas) ó 17 mg/kg/8 h ó 22,5 mg/kg/12h (solución oral) Con dosis baja de RTV (100-200 mg/12h): > 12 años y >50 kg: 600 mg/12h

Tabla 6. Continuación de tabla anterior.

Fármaco	Dosis
LPV/r	230 mg/m ² /12h Coadministrado con EFV o NVP: 300 mg/m ² /12h Adolescentes: 400 mg/12h Coadministrado con EFV o NVP: 533,3 mg/12h
ATV	300 mg/24h (+ RTV 100 mg/24h)
TPV	500 mg/12h (+ RTV 200 mg/12h)
TMC-114	600 mg/12h (+ RTV 100 mg/12h)

EFV: efavirenz; NVP: nevirapina; RTV: ritonavir; SQV: saquinavir; NFV: nelfinavir; APV: amprenavir; LPV/r: lopinavir/ritonavir; ATV: atazanavir; TPV: tipranavir; TMC-114: darunavir.

- 5) Control analítico con: Hemograma (hemoglobina, hematocrito, VCM, HCM, leucocitos totales, polimorfonucleares, monocitos, eosinófilos, basófilos, linfocitos, plaquetas) y bioquímica (creatinina, glucemia, GOT, GPT, GGT, fosfatasa alcalina, bilirrubina, lipasa, amilasa, metabolismo lipídico).
- 6) Recuento de linfocitos T CD4+ (en valor absoluto y %), linfocitos T CD8+ (en valor absoluto y %), carga viral de VIH y niveles de ARV.
Se definió fallo viral como la presencia de carga viral superior a 3 Log₁₀ en dos o más controles sucesivos tras 6 meses de tratamiento con TARGA.
- 7) Se registró también la toxicidad farmacológica específica, reacciones de hipersensibilidad, alteración de la función hepática, alteraciones neurológicas e hipercolesterolemia. Se definió hipercolesterolemia como un nivel de colesterol total en ayunas superior a 200 mg/dl e hipertrigliceridemia como un nivel de triglicéridos en ayunas superior a 150 mg/dl.

3.1.3 PROTOCOLO DE INCLUSIÓN Y SEGUIMIENTO DE LOS PACIENTES.

Cuando el pediatra responsable decidía que el paciente cumplía criterios de inclusión en el estudio, obtenía el consentimiento informado de la familia, del tutor legal o del paciente, si era mayor de edad.

A partir de ese momento, se incluían sus datos de filiación en una base de datos y, coincidiendo con el control clínico y analítico rutinario, se completaba un formulario con la exploración física completa (Anexo 2). Así mismo, se realizaba un estudio analítico que incluía hemograma, bioquímica, estudio inmunológico, determinación de carga viral y determinación de niveles plasmáticos de IP y/o ITNAN.

En la primera analítica, tras la inclusión en el estudio, se realizó un estudio de resistencias genotípicas a los pacientes con carga viral superior a 3 Log₁₀, que se repitió a lo largo del seguimiento en caso de ser la carga viral superior a 3 Log₁₀ en dos controles evolutivos consecutivos.

Tras la determinación de niveles de antirretrovirales al inicio del estudio, se realizaron controles seriados de analítica sanguínea, somatometría y determinación de niveles cada 6 meses, en pacientes que se mantenían estables y sin fracaso terapéutico.

En caso de fracaso clínico, virológico o inmunológico o de concentraciones de ARV infraterapéuticas, se determinaron los niveles de antirretrovirales cada 3 meses y antes de iniciar un nuevo tratamiento.

Igualmente, se realizó una determinación de control al mes de haber realizado modificaciones en el tratamiento.

3.1.4 INFORMACIÓN SOBRE LOS RESULTADOS A LOS FACULTATIVOS RESPONSABLES.

Tras la recepción de los informes con los resultados de la cromatografía, se elaboraba un informe para cada uno de los pediatras, con el nivel hallado y una

interpretación del mismo, de acuerdo a los rangos establecidos previamente (Anexo 3). El resultado que se ofrecía al facultativo era valorado teniendo en cuenta los datos de adherencia de cada paciente.

De este modo, considerando los tratamientos disponibles, los efectos adversos, la carga viral, el nivel de CD4 y las resistencias, los facultativos responsables modificaban o no los tratamientos y reflejaban su actitud en la historia clínica, así como los motivos de cada actuación.

Al terminar el periodo del estudio, los facultativos responsables de los pacientes cumplimentaron un cuestionario sobre la actitud tomada ante los resultados de la determinación de niveles y sobre la utilidad de la monitorización terapéutica de ARV (Anexo 4).

3.2 OBTENCIÓN Y PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS

3.2.1 OBTENCIÓN DE LA MUESTRA.

Tras determinar que un paciente cumplía las condiciones para la determinación de nivel plasmático de ARV, se le citaba en el laboratorio para la extracción de la muestra para análisis farmacocinético, hematimetría y bioquímica.

Para evitar modificaciones en la adherencia habitual, los niños y padres/tutores no eran informados de en qué extracción iban a determinarse las concentraciones de ARV.

Las extracciones se realizaban en el laboratorio de cada Hospital participante, a primera hora de la mañana (8:30-10:30 horas), en ayunas y antes de la toma de la siguiente dosis de medicación. Se evitó la obtención de muestras si el paciente no se encontraba estable o si existía algún proceso infeccioso intercurrente significativo.

Se extraía, por venopunción, un mínimo de 1 ml de sangre en un tubo de vidrio seco con ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) (VACUTAINER®) y se enviaba al laboratorio para su procesamiento, en menos de 4 horas.

3.2.2 IDENTIFICACIÓN.

En el laboratorio de extracción, las muestras se identificaban mediante una etiqueta adhesiva o mediante rotulación permanente con la siguiente información:

- Fármaco.
- Iniciales del paciente.
- Hospital de origen.
- Número de historia clínica.
- Fecha de extracción.
- Hora de toma de la muestra.

Esta información se incluía en la Hoja de recogida de datos (Anexo 5) correspondiente a cada una de las muestras.

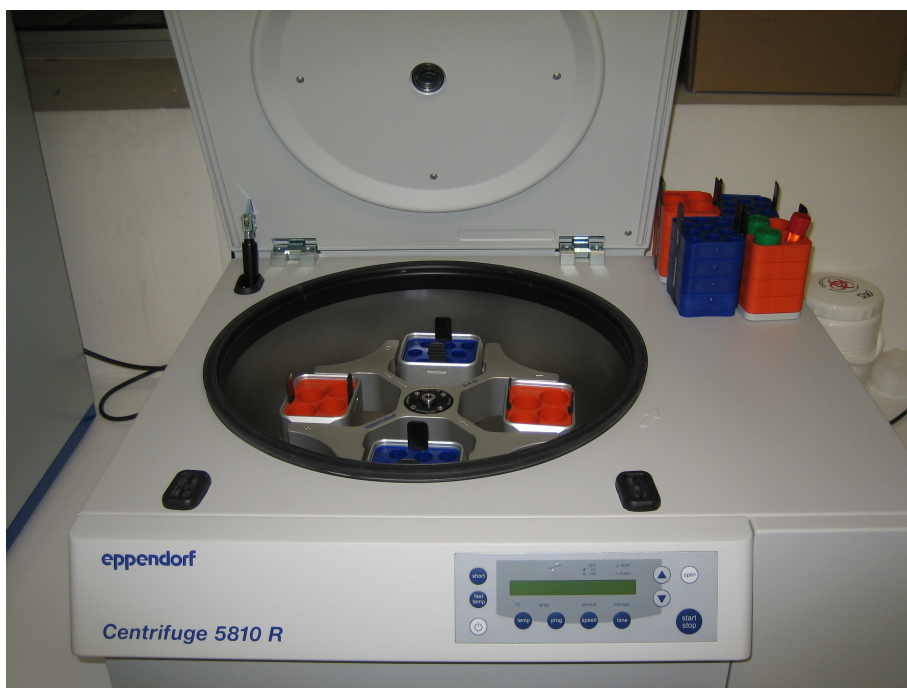
En el momento de la extracción, se realizaba una comprobación de la adherencia y se registraba la toma de fármacos o remedios naturales concomitantes (Anexo 6).

3.2.3 PROCESAMIENTO DE LA MUESTRA.

Las muestras se recibían en el Laboratorio de Inmuno-Biología del Hospital General Universitario Gregorio Marañón de Madrid, junto con la Hoja de recogida de datos.

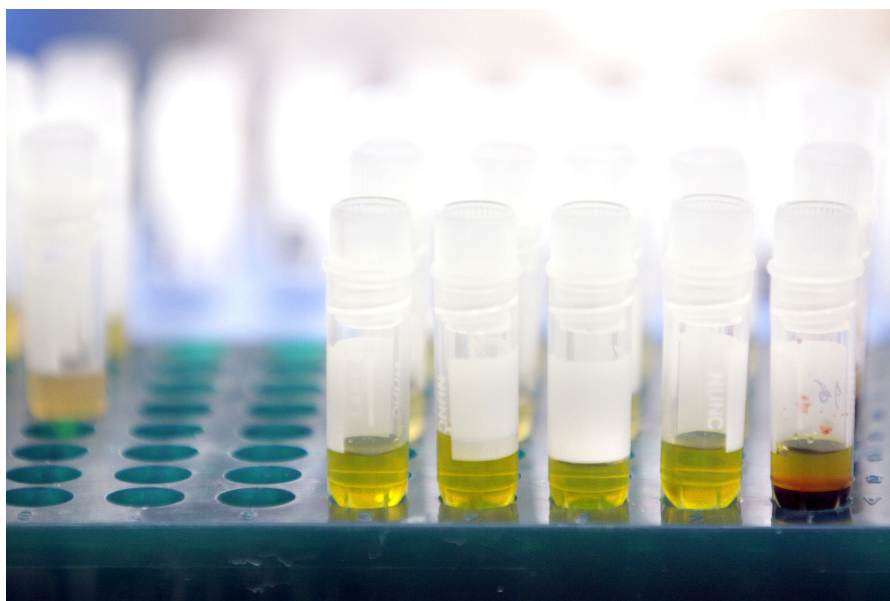
Los tubos con la sangre total, se centrifugaban a 2500 rpm, durante 10 minutos (Figura 7).

Figura 7. Centrífuga Eppendorf Centrifuge 5810 R.



Se extraía 0,5-1 ml de plasma con una pipeta y se recogía en tubos Nunc Cryotube Vials rotulados con los datos de la muestra (Figura 8).

Figura 8. Tubos Nunc que contienen el plasma obtenido tras la centrifugación.



El plasma se almacenaba inmediatamente a -80°C en una caja de asistencia y se preparaba para el envío, con nieve carbónica para mantener esa temperatura.

Una vez se habían preparado las muestras de los distintos Hospitales, se enviaban al Laboratorio de Retrovirología (Fundación IrsiCaixa. Hospital Germans Trias i Pujol, Badalona), para su procesamiento en las siguientes 24-48 horas.

3.3 ANÁLISIS DE LAS MUESTRAS

3.3.1 DETERMINACIÓN DE LOS NIVELES DE ARV.

Se analizaba la concentración plasmática de ARV en el momento pre-dosis (C_{valle}), excepto en pacientes en tratamiento con dosis nocturna de efavirenz, en los que la muestra se recoge al menos 8 horas tras la toma.

La determinación de niveles de fármacos se realiza mediante una técnica de Cromatografía Líquida de Alta Eficacia (HPLC), de fase líquida y detector ultravioleta, validada en el Laboratorio de Farmacocinética del Hospital Clínico de Barcelona³⁰⁵. El cromatógrafo está equipado con inyector de muestras automático, detector espectrofotométrico de longitud de onda variable y sistema automático de integración y registro de datos (Figura 9).

El protocolo de extracción del fármaco para el análisis de amprenavir, atazanavir, lopinavir, ritonavir, saquinavir, tipranavir y TMC-114 consistía en una extracción líquido-líquido: se añade éter terc-butilmetílico al plasma, se agita en un mezclador rotatorio y se centrifuga. Se descarta la fase acuosa y se extrae la fase orgánica, que se transfiere a un nuevo tubo para ser evaporada a sequedad en corriente de nitrógeno y a temperatura de 40° . El residuo seco se reconstituye con fase móvil, se añade hexano y se toma la fase acuosa para inyectarla en el cromatógrafo.

Figura 9. Cromatógrafo utilizado para el estudio.



En el caso de efavirenz, la extracción es en fase sólida: se utilizan cartuchos que se acondicionan previamente con metanol-H₂O, se añade el plasma, se eluye con distintas proporciones de metanol-H₂O, se seca y se resuspende en fase móvil.

Para nevirapina, la extracción es mediante precipitación de proteínas: se precipitan las proteínas con ácido perclórico, se agita en un mezclador rotatorio y se toma el sobrenadante.

El protocolo de validación de los métodos analíticos incluía la realización de los ensayos de linealidad, precisión y exactitud intra- e inter-día, recuperación y estabilidad.

El análisis permitía determinar la concentración plasmática o sérica de muchos de los ITNAN e IP disponibles en la actualidad: amprenavir, atazanavir, darunavir, efavirenz, lopinavir, nevirapina, ritonavir, saquinavir y tipranavir.

3.3.2 RANGOS DE REFERENCIA DE CONCENTRACIONES PLASMÁTICAS DE ARV.

Para el estudio de los niveles plasmáticos, se tomaron como referencia los rangos de C_{\min} y C_{\max} establecidos como normales para adultos en distintos estudios^{110, 112, 204, 216, 217, 306, 307} y recogidos en www.hivpharmacology.com (Tabla 7).

Conforme a estos niveles de referencia, los resultados se clasificaban en tres grupos: infraterapéuticos, normales y supratерapéuticos (en los casos en los que existía una C_{\max} establecida). No se incluyó en el análisis la concentración de ritonavir cuando era administrado a dosis no terapéutica (100 o 200 mg), como potenciador de otros IP.

Tabla 7. Rangos terapéuticos establecidos para el estudio.

ITNAN	C_{valle} eficaz (ng/ml)	C_{valle} tóxica (ng/ml)
Efavirenz ²¹⁶	1000	4000
Nevirapina ²⁴¹	3000	No datos disponibles
IP		
Amprenavir	400 (<i>naïve</i>)	No datos disponibles
	1200 (experimentados)	
Atazanavir	150 (<i>naïve</i>)	850
	100-120 (experimentados)	
Indinavir ^{308, 309}	100	10000
Lopinavir	1000 (<i>naïve</i>)	10000*
	4000 (experimentados)	
Nelfinavir ²³⁸	800	No datos disponibles
Ritonavir ²⁰⁵	2100	No datos disponibles
Saquinavir	100	No datos disponibles
Darunavir	550	No datos disponibles
Tipranavir	20500 (<i>naïve</i>)	No datos disponibles
	14000 (experimentados)	
Fosamprenavir	400 (<i>naïve</i>)	No datos disponibles
	800 (pretratados)	

* Límite establecido para este estudio, para valorar la posibilidad de toxicidad.

3.3.3 DETERMINACIÓN DE LA CARGA VIRAL.

Para determinar el ARN viral en plasma, se extraían 4 mL de sangre venosa cuando el paciente acudía al laboratorio de su Hospital. La muestra de sangre se recogía en tubos que contenían heparina como anticoagulante.

El plasma se separaba por centrifugación (3500 rpm, durante 10 minutos) antes de transcurridos 60 minutos de la recogida de sangre.

El plasma obtenido se repartía en dos alícuotas, dispuestas en criotubos de plástico con tapón de rosca, debidamente identificadas (iniciales del paciente, fecha y hora de la extracción de la muestra). Las muestras se almacenaban a una temperatura inferior a -20°C, en el Laboratorio de Inmuno-Biología del Hospital General Universitario Gregorio Marañón de Madrid.

Los valores de ARN viral en el plasma de los pacientes se cuantificaron usando un ensayo comercial (Amplicor-HIV MonitorTM Test, Roche[®] Diagnostic System), aprobado por la Federal Drug Administration (FDA)³¹⁰ para monitorización de carga viral en Mayo de 1996, con un límite inferior de detección de 50 copias/ml.

3.3.4 DETECCIÓN DE ANTICUERPOS ANTI-VIH.

La determinación de anticuerpos anti-VIH en el plasma se realizó mediante un equipo comercial (New Lav Blot I, Sanofi Pasteur[®]), destinado a la detección de estos anticuerpos por inmunotransferencia (Western-Blot)³¹¹.

3.3.5 CUANTIFICACIÓN DE LINFOCITOS T CD4+ Y CD8+.

Las células T en sangre periférica fueron cuantificadas por inmunofluorescencia directa, usando anticuerpos monoclonales de la serie T. La adquisición se llevó a cabo en un citómetro FACScan (Becton-Dickinson[®], San José C.A., EE.UU.)²⁰ usando el programa de adquisición Lysis II (Becton-Dickinson[®], San José C.A., EE.UU.) dentro de las dos horas siguientes a la tinción de las células.

Se realizó el análisis de las subpoblaciones de células T por citometría de flujo, usando la técnica de marcaje en tres colores en sangre total, lisado y lavado. La adquisición se llevó a cabo en un citómetro FACScan (Becton-Dickinson®) usando el programa de adquisición Lysis II (Becton-Dickinson®) dentro de las dos horas siguientes a la tinción de las células. Los parámetros óptimos para la adquisición (sensibilidad del detector, amplificación del detector, compensación) se determinaron usando el reactivo Calibrite (Becton-Dickinson®) y el programa AutoComp (Becton-Dickinson®) de forma periódica. Se adquirieron 5000 eventos usando una puerta de adquisición para células T CD4+ y otra para CD8+. Dicha puerta se definió usando los parámetros de baja complejidad y alta expresión de CD4 o CD8^{312, 313}.

El análisis de los datos se realizó con el programa de análisis Lysis II (Becton-Dickinson®). Se usaron los controles isotópicos adecuados (IgG1-FITC; IgG1-PE) para valorar la tinción inespecífica, la cual se sustrajo del resto de los resultados. También se midió la intensidad relativa de fluorescencia (IRF) de HLA-DR y CD38 como la media de IRF usando histogramas simples sin cursor.

3.3.6 MEDICIÓN DE RESISTENCIAS GENOTÍPICAS A ANTIRRETROVIRALES.

En caso de carga viral al inicio del estudio de más de 3 Log₁₀, se realizó estudio de resistencias genotípicas en el Laboratorio de Inmuno-Biología Molecular del Hospital General Universitario Gregorio Marañón.

Se realizó un estudio de secuenciación de la proteasa y de la transcriptasa inversa en el ARN-VIH procedente de plasma (500µl) utilizando primero una PCR preparativa y, posteriormente, secuenciando.

Para el punto de detección de mutaciones en el ADN proviral, se extrajo el ADN de células mononucleares de sangre periférica (1 x 10⁶ PBLs) Wizard Genomic DNA

Purification Kit[®]. Se realizó una doble PCR, se obtuvo un fragmento de 2 Kb que comprendía la proteasa y la transcriptasa inversa.

Se realizó una PCR externa: 9GU – 53RD (fragmento de 2,4 Kb) en las siguientes condiciones: 94° C x 5 min; 3 ciclos: 94° C x 1 min / 54° C x 1 min / 72° C x 2'50''; 32 ciclos: 94° C x 30 seg / 54° C x 30 seg / 72° C x 2'50''; 72° C x 10 min; 4° C *forever*. Y se realizó una PCR anidada: PRF1/PRF2 – 3'RTM (fragmento de 2 Kb) en las siguientes condiciones: 94° C x 5 min; 3 ciclos: 94° C x 1 min / 53° C x 1 min / 72° C x 2'20''; 3 ciclos: 94° C x 30 seg / 53° C x 1 min / 72° C x 2'20''; 72° C x 10 min; 4° C *forever*.

Se utilizó un control positivo (ADN con secuencia VIH) y un control negativo. Se visualizó la banda en un gel de agarosa y se purificó el ADN amplificado (QIAquick PCR Purification Kit QUIAGEN, DNA Clean-up System PROMEGA[®]). Se secuenció con los *primers* internos: PRF1, PRF2, 18RD, 355RD, 17RV, 13RD, 54RV, INV, 315RTV, 47RV, 3RTM, IND, 415 RTV, Y115NH, 362RD, 20Rd2 y se calculó el CI50 de los aislados virales para cada antirretroviral.

Se analizó el gen completo de la proteasa del VIH-1 mediante el software Gene Objects software (Visible Genetics). El genotipo del VIH aislado en nuestros pacientes en el momento basal fue interpretado según la base de datos para secuencias de proteasa y transcriptasa inversa de la Universidad de Stanford. Se empleó el programa HIVdb: *genotypic resistance interpretation algorithm*³¹⁴.

3.4 MEDICIÓN DE LA ADHERENCIA.

En el momento del control clínico, el facultativo responsable de cada paciente comprobaba la adherencia referida por el paciente y la reflejaba en la historia clínica.

En el momento de la extracción, la comprobación de la adherencia se realizaba preguntando al paciente o tutor legal qué tratamiento estaba recibiendo, a qué hora había tomado por última vez el IP o ITNAN y si había olvidado alguna dosis en la semana previa (Anexo 6) y se controlaba la dispensación de medicación antirretroviral.

La adherencia se clasificaba como buena, regular o mala. Se establecía como adherencia buena la toma de más del 90% de los comprimidos; regular, entre el 70 y el 90% y mala, menos del 70%.

Al terminar el periodo del estudio, los facultativos responsables de los pacientes cumplimentaron un cuestionario sobre la utilidad de la determinación de niveles de ARV y sobre adherencia (Anexo 4).

3.5 ANÁLISIS ESTADÍSTICO.

Se trata de un estudio prospectivo, multicéntrico, abierto, de monitorización de medicación antirretroviral en niños infectados por el VIH.

Las variables se almacenaron en una base de datos de Acces y, posteriormente, en cada uno de los programas de análisis de datos (SPSS, Arcview), con los cuales se llevó a cabo la inferencia estadística. La recogida de datos se realizó respetando la confidencialidad conforme a la Ley Orgánica 15/1999 de Protección de datos y el R.D. 994/99.

Se diseñó una base de datos que reflejara exactamente el contenido del cuaderno de recogida de datos, en la que se estableció la matriz de entrada de datos con los rangos o valores posibles, así como las diferentes reglas de coherencia entre variables.

Se controló la calidad de la información recibida, mediante la realización de un análisis exploratorio orientado a la detección de valores discrepantes, fuera de rango o ausentes.

El análisis exploratorio también informó respecto a la distribución de las principales variables a estudiar y orientó sobre posibles transformaciones.

3.5.1 ANÁLISIS DESCRIPTIVO DE LA POBLACIÓN A LA ENTRADA DEL ESTUDIO.

Se estudiaron y analizaron todas las variables a la entrada en el estudio: tratamientos recibidos, duración, signos de toxicidad, cumplimiento del tratamiento.

Se presentaron estadísticas descriptivas resumen de las variables continuas con los valores de: número de sujetos, media, desviación típica, mediana, mínimo, máximo y cuantiles 25% y 75%. Para los datos categóricos, se presentaron las distribuciones de frecuencia (absoluta y relativa).

Todas las pruebas estadísticas se consideraron como bilaterales y se tomaron como valores significativos, aquellos p-valores $< 0,05$.

El análisis estadístico de los datos se realizó con el programa SPSS 15.0 (SPSS Inc.).

3.5.2 ESTUDIO ANALÍTICO DE LOS DATOS.

Se estudió la correlación entre los niveles de ARV y la carga viral y la cifra de linfocitos CD4+ y CD8+, en valor absoluto y porcentaje. Para normalizar la distribución de la carga viral, se transformó en Log_{10} .

Se analizó la relación entre los niveles elevados de ARV, la toxicidad y tolerancia al TARGA y el cumplimiento del tratamiento. Así mismo, se analizó la relación entre niveles infraterapéuticos de ARV y el fracaso terapéutico, medido como aumento de la carga viral.

El coeficiente de variación se calculó como el cociente entre la desviación estándar y la media.

Se utilizaron análisis paramétricos como la t-Student y ANOVA para comparar grupos. Así mismo, se aplicaron según el tamaño y condición de los grupos formados, análisis no paramétricos de rangos como la U-Mann-Whitney o el análisis de varianza de Kruskal-Wallis.

Se midió la relación y la asociación entre las diferentes características estudiadas. Para ello se realizaron análisis de regresión multivariante (logística y lineal) para controlar los diferentes factores de confusión e interacción.

3.5.3 TABLAS DE CONTINGENCIA.

La prueba ji-cuadrado de Pearson mide la asociación entre dos variables cualitativas o categóricas. Se contrasta si ambas variables son o no independientes. El test exacto de Fisher es una variante de la prueba ji-cuadrado de Pearson y es una alternativa cuando el tamaño muestral es pequeño³¹⁵.

3.5.4 ANÁLISIS DE SUPERVIVENCIA.

Se trata de un conjunto de técnicas estadísticas apropiadas para estudios en los que un sujeto es seguido durante un periodo de tiempo en el cual se observa la presencia o ausencia de un determinado suceso. Su objetivo es describir las probabilidades de ocurrencia y la evolución de la tasa de incidencia del suceso a lo largo del seguimiento³¹⁶.

El método de Kaplan-Meier se utiliza para realizar curvas de supervivencia. Dada una variable dependiente cuyos valores corresponden al tiempo transcurrido hasta que ocurre un determinado suceso final, el objetivo de este análisis es estimar, en función del tiempo, la probabilidad de que ocurra dicho suceso. Su representación gráfica consiste en situar en el eje de abscisas el tiempo de seguimiento y en el de

ordenadas la probabilidad de que no aparezca o aparezca el suceso estudiado. Permite seguir la evolución de un grupo de pacientes desde un estado inicial hasta uno final. Las diferencias entre los grupos formados se determinaron por el análisis de Log-rank (Mantel-Haenzel) con un nivel de significación inferior al 0,05.

3.5.5 PRUEBAS PARAMÉTRICAS.

Coeficiente de correlación lineal de Pearson (r).

Este coeficiente permite estudiar la fuerza de asociación lineal entre dos variables. Dicha fuerza será nula (asociación lineal inexistente) si $r = 0$, aumentando a medida que el valor de r se aproxima a 1 o a -1. El signo del coeficiente r indica el sentido de la asociación, siendo directa cuando el signo es positivo e inversa cuando es negativo³¹⁷.

Análisis de la varianza.

La comparación de las medias de cada variable en los distintos grupos estudiados se efectuó mediante el análisis de la varianza (ANOVA). Este análisis estudia la variabilidad entre los grupos y dentro de los grupos. La F Snedecor detectará si las medias de al menos un grupo difieren del resto³¹⁵.

El análisis de la varianza exige el cumplimiento de una serie de condiciones para poder ser aplicada: la variable ha de seguir una distribución normal en los grupos estudiados y las varianzas han de ser homogéneas entre los grupos. La normalidad de cada una de las variables numéricas se comprobó previamente mediante la prueba de Kolmogorov-Smirnov; la homogeneidad de las varianzas se comprobó mediante la prueba de Levene.

Regresión logística.

Es una técnica multivariante adecuada si la variable dependiente es dicotómica, pudiendo ser las variables independientes de cualquier naturaleza (dicotómica,

ordinal, continua o nominal). El exponencial de los coeficientes de la regresión logística, pueden ser directamente interpretados como *odds ratios*.

3.5.6 PRUEBAS NO PARAMÉTRICAS.

Las pruebas estadísticas no paramétricas se usaron cuando la muestra fue pequeña o la distribución de los datos en la población fue libre (los datos no procedían de poblaciones normales y con igualdad de varianzas)^{317, 318}.

“H” de Kruskal-Wallis.

Análogo no paramétrico del análisis de varianza de un factor. Contrasta si varias muestras independientes proceden de la misma población. Esta prueba estadística compara diferencias a nivel global entre los distintos grupos estudiados. Cuando las diferencias fueron significativas, se utilizó la prueba “U” de Mann-Whitney para comprobar cuáles eran los grupos que diferían significativamente.

“U” de Mann-Whitney.

Contrasta si dos muestras de dos subpoblaciones tienen la misma distribución. Las observaciones de ambos grupos se combinan y clasifican con respecto al rango promedio asignado en caso de producirse empates. Si la posición de las poblaciones es idéntica, deberán mezclarse aleatoriamente los rangos en ambas muestras.

Análisis de correlación de Spearman.

Variante del coeficiente de correlación de Pearson. Es una medida de asociación que se calcula a partir de la asignación de rangos a los valores ordenados. Dicha asociación será nula si $r_s = 0$, aumentando a medida que el valor de r_s se aproxima a 1 ó a -1. El signo del coeficiente r_s indica el sentido de la asociación, siendo directa cuando el signo es positivo e inversa cuando es negativo.

3.6 LIMITACIONES DEL ESTUDIO.

La principal limitación del estudio es la recogida de datos de las historias clínicas de los pacientes. En algunas ocasiones, los facultativos responsables no completaban el formulario correspondiente y era necesario revisar la historia clínica para obtener datos de la exploración física, la analítica o el tratamiento. Esta fuente de información resulta, en ocasiones, incompleta.

El hecho de que se trate de un estudio multicéntrico, hace que el investigador no sea el que realiza la visita rutinaria a todos los pacientes. Esto implica una heterogeneidad a la hora de la recogida de los datos, implícita en este tipo de estudios.

Otra limitación del estudio es la dificultad para valorar la adherencia de los pacientes al tratamiento, ya que todos los métodos actuales para medirla tienen limitaciones.

Así mismo, el uso del informe médico para medir la frecuencia de lipodistrofia también supone una limitación. Este método es subjetivo para estimar la incidencia real de esta complicación.

Sin embargo, disponemos de un número importante de pacientes con un seguimiento prolongado, lo cual permite obtener unos resultados consistentes.

4. RESULTADOS

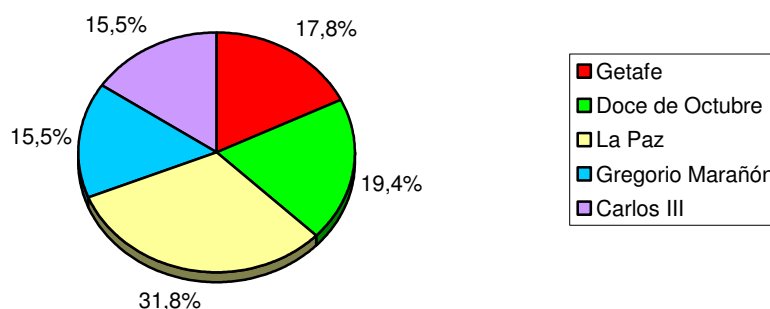
4.1 DESCRIPCIÓN DEMOGRÁFICA, CLÍNICA E INMUNOLÓGICA DE LA COHORTE EN LA QUE SE HA REALIZADO EL ESTUDIO.

Se realizó un estudio observacional, prospectivo, en una cohorte de 129 pacientes con infección por VIH de transmisión vertical y en tratamiento antirretroviral de gran actividad que incluía IP y/o ITNAN durante, al menos, 4 semanas.

El periodo de estudio estuvo comprendido entre el 1 de Marzo de 2006 y el 30 de Junio de 2008. De los 129 pacientes, 71 (55%) eran niñas y 58 (45%) eran niños. Todos los pacientes incluidos tenían una edad superior a los 18 meses, en el momento de finalización del estudio. Las edades a la entrada en el estudio, estaban comprendidas entre los 4 meses y los 18,9 años. La edad media a la entrada en el estudio fue de 11,2 años (DT 4,5 años) y la edad media al final del estudio fue de 12,9 años (rango 1,5-20,8 años. DT 4,6 años). El tiempo medio de seguimiento fue de 19,5 meses, con un mínimo de un mes y un máximo de 27 meses (DT 6,1 meses). No se produjo ningún fallecimiento ni ninguna pérdida en el seguimiento.

Los pacientes procedían de distintos Hospitales de Madrid, distribuidos según el esquema de la Figura 10.

Figura 10. Distribución de los pacientes según el hospital de origen.



La evaluación del estado nutricional de los pacientes en el momento basal se analizó mediante el cálculo del índice de masa corporal (IMC). La media del IMC, al inicio del estudio, fue 18,3 kg/m² (DT: 3,5 kg/m²) y la media del Z score del IMC fue de -0,21 kg/m².

Las características del examen físico de los pacientes a su entrada en el estudio, se detallan en la Tabla 8.

Tabla 8. Características clínicas de los niños incluidos en la cohorte, en el momento de inicio del seguimiento.

Número de pacientes	129
Género: niños/niñas	58 (45%) / 71 (55%)
Edad mediana (años)	11,7 (P ₂₅ : 8,1 - P ₇₅ : 14,8)
Peso medio (kg)	37,7 (DT 16,5)
IMC medio (kg/m²)	18,3 (P ₂₅ : 15,7- P ₇₅ : 20,5)
Estadio Tanner	
1	51 (39,5 %)
2	20 (15,5 %)
3	11 (8,5 %)
4	8 (6,2 %)
5	39 (30,2 %)

IMC: índice de masa corporal; P₂₅: percentil 25; P₇₅: percentil 75.

El 39,5% de los pacientes se encontraban en estadio prepuberal del desarrollo y el resto presentaba algún signo de desarrollo puberal.

A su entrada en el estudio, se realizó control analítico completo a todos los pacientes.

Los resultados de la hematimetría y la bioquímica, se detallan en la Tabla 9.

Tabla 9. Valores analíticos de los 129 pacientes de la cohorte, en el momento de entrada en el estudio.

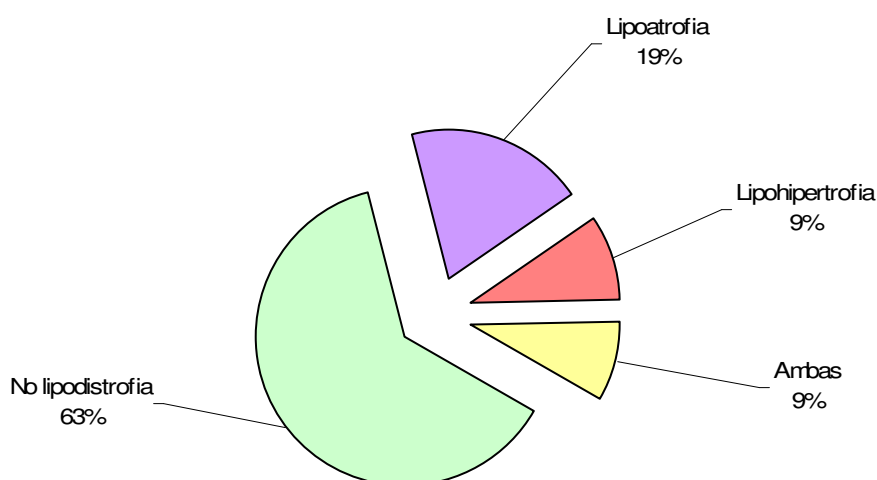
	Media	P₂₅	P₇₅	DT
Hemoglobina (gr/dl)	13,3	12,4	14,1	1,2
Hematocrito (%)	39,6	37	41,8	3,6
VCM (μm^3)	87	82	93	7
Leucocitos (/mm ³)	7139	5700	8300	2239
Linfocitos (/mm ³)	3005	2164	3500	1330
Plaquetas (/mm ³)	288.966	230.000	329.000	84.750
Creatinina (mg/dl)	0,5	0,5	0,7	0,15
GOT (UI/L)	28	22	32	10
GPT (UI/L)	22	15	24	13
Colesterol (mg/dl)	182	154	210	42
Col-HDL (mg/dl)	56	44	62	32
Col-LDL (mg/dl)	104	83	126	35
Triglicéridos (mg/dl)	139	76	161	97

P₂₅: percentil 25; P₇₅: percentil 75; VCM: Volumen corpuscular medio; UI: unidades internacionales; GOT: transaminasa glutámico oxalacética; GPT: transaminasa glutámico pirúvica; Col-HDL: colesterol unido a lipoproteínas de alta densidad; Col-LDL: colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad.

El 30,8% de los pacientes presentaban cifras de colesterol superiores a 200 mg/dl al inicio del estudio. En este grupo de pacientes, la cifra media de colesterol fue de 232,1 mg/dl (DT 25 mg/dl). En el momento basal, 24,8% de los niños tenían niveles de triglicéridos mayores de 150 mg/dl. Entre ellos, la cifra media de triglicéridos fue de 247,8 mg/dl (DT 103,9 mg/dl).

En lo que respecta a los signos clínicos de lipodistrofia, se evaluó su presencia en los pacientes, según los datos recogidos en las historias clínicas. 48 de los niños (37,2%) presentaban algún tipo de lipodistrofia a su entrada en el estudio. En este subgrupo de pacientes, 52% tenían lipodistrofia en grado leve, 31,2% moderada y 16,8% grave. La distribución del tipo de lipodistrofia era la detallada en la Figura 11.

Figura 11. Distribución de los signos clínicos de lipodistrofia entre los pacientes de la cohorte. Frecuencia de lipoatrofia y lipohipertrofia.



Atendiendo al estadio clínico de los pacientes de la cohorte, el 41,1% de los niños cumplían criterios de estadio A en el momento inicial del seguimiento, 28,7% se encontraban en estadio clínico B y 30,2 % en estadio C. En cuanto al estadio inmunológico en el momento basal, 24% de los pacientes se encontraban en estadio 1, 27,9% en estadio inmunológico 2 y 48,1% en estadio 3. La distribución de los estadios clínico e inmunológico de cada paciente era la que se especifica en la Figura 12. En la Tabla 10, se resumen los parámetros inmunológicos y de actividad viral.

79 pacientes (61,2%) tenían carga viral indetectable al inicio del estudio (<50 copias/ μ l). 20 pacientes (15,5%) tenían menos de 1000 copias/ μ l, 12 (9,3%) menos de 10.000 copias/ μ l y el resto (13,9%) más de 10.000 / μ l.

Figura 12. Distribución de los pacientes según el estadio clínico e inmunológico a su entrada en el estudio.

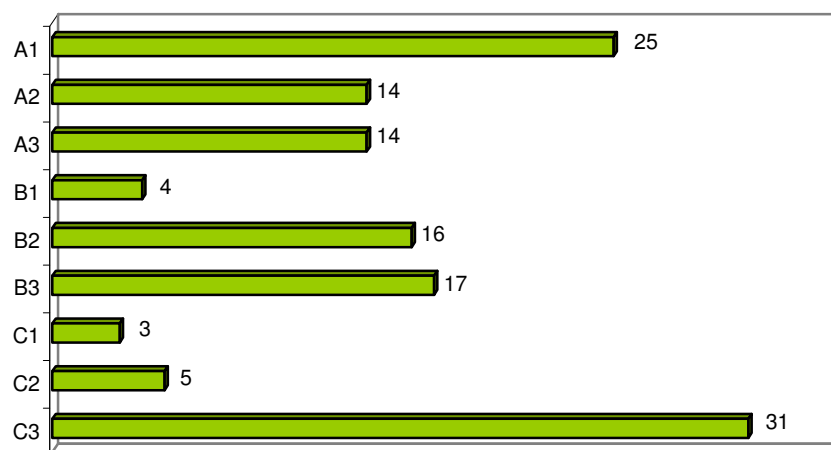


Tabla 10. Valores inmunológicos y de actividad viral de los pacientes en el momento de entrada en el estudio.

	Media	Mínimo	Máximo	DT
CD4 (/mm ³)	941	125	3315	552
CD4 (%)	30,7	4	60	9,1
CD8 (/mm ³)	1132	210	3645	571
CD8 (%)	38,6	15	85	12,1
Log ₁₀ CV	2,34	1,70	5,89	1,12

CD4: linfocitos CD4+; CD8: linfocitos CD8+; Log₁₀ CV: logaritmo decimal de la carga viral.

Se recogieron datos sobre tratamientos farmacológicos concomitantes y co-morbilidad en los sujetos a estudio. Estos datos se detallan en las Tablas 11 y 12.

Tabla 11. Distribución de los fármacos asociados al tratamiento antirretroviral, en los pacientes de la cohorte, a su entrada en el estudio, expresado en número de pacientes.

Tratamiento	Nº
Budesonida	3
Montelukast	3
Atorvastatina	2
Suplementos de hierro	1
Risperidona	1
Pioglitazona	1
Paracetamol	1
Omeprazol	1
Metilfenidato	1
Levotiroxina	1
Gammaglobulina	1
Carbamacepina	1

Tabla 12. Distribución de las distintas patologías coexistentes en los pacientes de la cohorte, expresado en número de pacientes.

Patología	Nº
Encefalopatía	7
Tetraparesia espástica	6
Asma	5
Hipotiroidismo	2
Síndrome de Down	1
Retraso psicomotor	1
Parotiditis crónica	1
Neutropenia crónica autoinmune	1
Neumonitis intersticial linfocítica	1
Miocardopatía dilatada	1
LNH abdominal	1
Hernia de hiato	1

Tabla 12. Continuación de la tabla anterior.

Patología	Nº
Fibroadenoma de mama	1
Epilepsia	1
Ductus arterioso persistente	1
Diplejia espástica	1
Coloboma	1
CMV congénito	1
CIA	1
Canal A-V	1
Artritis reumatoide	1
Artritis psoriásica	1

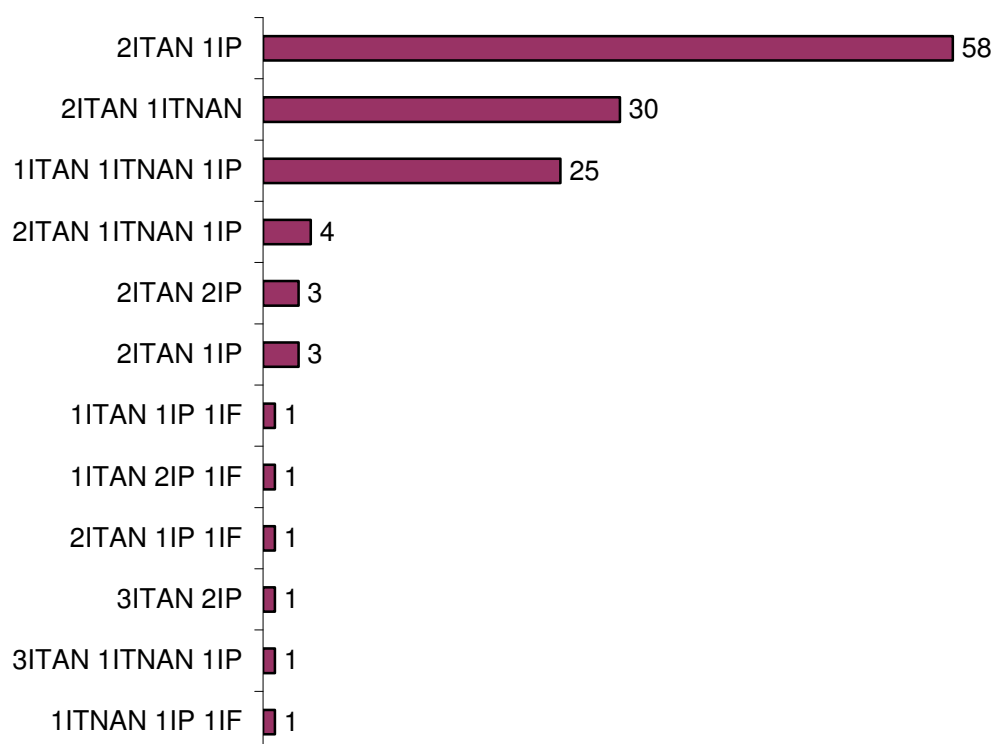
LNH: linfoma no Hodking; CMV: citomegalovirus; CIA: comunicación interauricular; A-V: auriculo-ventricular.

4.2 DESCRIPCIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS DEL TRATAMIENTO ANTIRRETROVIRAL QUE RECIBÍAN LOS PACIENTES DE LA COHORTE EN EL MOMENTO DE ENTRADA EN EL ESTUDIO.

En lo referente al régimen de TARGA que estaban recibiendo los pacientes a su entrada en el estudio, la terapia múltiple incluía, al menos un IP en el 76,7% de los niños y, al menos un ITNAN en el 47,3%.

La combinación concreta de ARV es la que se detalla en la Figura 13.

Figura 13. Descripción del tipo de régimen de terapia antirretroviral de gran actividad que recibían los pacientes a la entrada en el estudio.



El tiempo medio de tratamiento ARV previo de los pacientes incluidos en el estudio era de 39,2 meses (DT 35,5 meses). El tiempo medio previo con ITAN era 42,9 meses (DT 34,5 meses), con ITNAN 40 meses (DT 36,9 meses), con IP 35,5 meses (DT 29,7 meses) y con IF 23,5 meses (DT 17,7 meses).

Sólo 5 (3,8%) de los 129 pacientes estaban recibiendo su primer régimen de TARGA en el momento de entrada al estudio (*naïve*). El resto de los niños (96,2%), estaban recibiendo su segunda o siguientes líneas de TARGA. Se compararon las características basales entre los dos grupos y no hubo diferencias ni en la edad media ($p = 0,104$), ni en el IMC ($p = 0,22$), ni en el estadio de desarrollo puberal ($p = 0,73$), ni en la presencia de lipodistrofia ($p = 0,34$).

La combinación concreta de ARV que constituían el TARGA de los pacientes, al inicio del estudio, se resume en la Tabla 13.

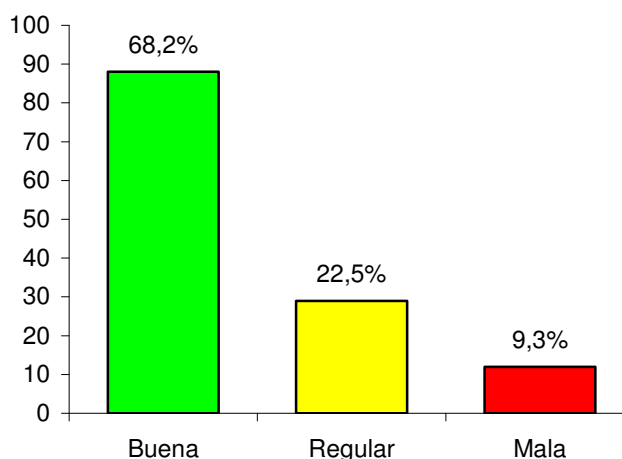
Tabla 13. Combinaciones de fármacos que constituían el TARGA de los pacientes en el momento de inicio del seguimiento y su frecuencia (número de pacientes).

Régimen TARGA	Nº	Régimen TARGA	Nº
3TC d4T NFV	7	3TC AZT TMC-114 TMC-125	1
3TC ddl LPV/r	7	3TC d4T EFV LPV/r	1
ddl FTC EFV	7	3TC ddl EFV	1
ddl EFV LPV/r	6	3TC ddl NFV	1
3TC AZT LPV/r	5	3TC EFV LPV/r	1
3TC ABC LPV/r	5	3TC NVP LPV/r	1
ABC FTC LPV/r	5	3TC TNF LPV/r	1
3TC AZT EFV	4	ABC ddl ATV	1
3TC d4T EFV	4	ABC d4T EFV	1
3TC d4T LPV/r	4	ABC d4T NFV	1
ABC FTC EFV	4	ABC ddl EFV LPV/r	1
ddl EFV NFV	4	ABC ddl EFV NFV	1
3TC ABC EFV	3	ABC ddl FTC LPV/r	1
3TC AZT NFV	3	ABC ddl TPV T-20	1
ABC d4T LPV/r	3	ABC EFV NFV	1
ABC EFV LPV/r	3	ABC NVP NFV	1
d4T EFV LPV/r	3	ABC NVP RTV	1
FTC TNF EFV	3	AZT ddl LPV/r	1
FTC TNF LPV/r	3	AZT FTC SQV LPV/r	1
ABC ddl LPV/r	2	AZT TNF LPV/r	1
ABC ddl LPV/r SQV	2	d4T FTC LPV/r	1
ABC TNF LPV/r	2	d4T FCT NFV	1
d4T NVP LPV/r	2	d4T TNF LPV/r	1
ddl FTC NVP	2	ddl FTC NFV	1
3TC ABC APV LPV/r	1	ddl SQV LPV/r T-20	1
3TC ABC ATV EFV	1	TNF FTC ATV	1
3TC ABC d4T LPV/r	1	TNF EFV LPV/r	1
3TC ABC d4T NFV	1	TNF NVP LPV/r	1
3TC ABC NFV	1	TNF TPV T-20	1
3TC AZT NVP	1	TMC-114 TMC-125 T-20	1

3TC: lamivudina; d4T: estavudina; NFV: nelfinavir; ddl: didanosina; LPV/r: lopinavir/Ritonavir; FTC: emtricitabina; AZT: zidovudina; ABC: abacavir; EFV: efavirenz; NVP: nevirapina; SQV: saquinavir; APV: amprenavir; ATV: atazanavir; RTV: ritonavir; TNF: tenofovir; T-20: enfuvirtide; TPV: tipranavir; TMC-114: darunavir; TMC-125: etravirine.

En lo que respecta a la adherencia al tratamiento, era buena o regular en más del 90% de los pacientes, tal y como se detalla en la Figura 14.

Figura 14. Distribución de los pacientes en función del grado de adherencia al tratamiento antirretroviral.



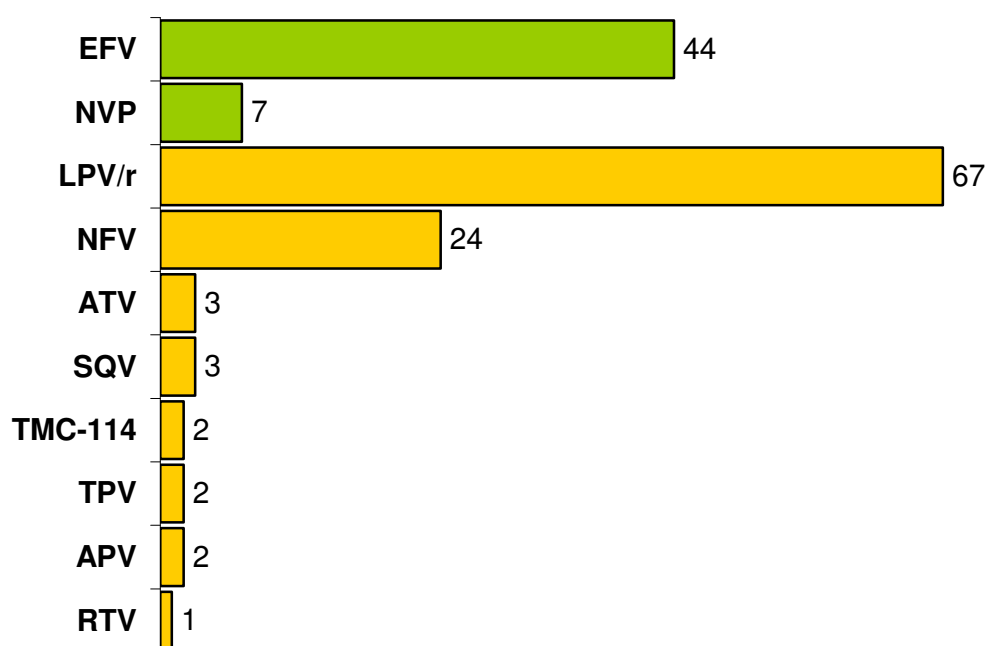
4.3 ANÁLISIS DE LAS CONCENTRACIONES PLASMÁTICAS DE ARV, EN EL MOMENTO DE INICIO DEL ESTUDIO.

En las 129 muestras obtenidas al inicio del estudio, se determinaron un total de 155 niveles plasmáticos de antirretrovirales, 51 de ITNAN y 104 de IP.

Los IP más utilizados fueron lopinavir/ritonavir y nelfinavir, constituyendo el 64,4% y el 23% de las determinaciones de IP, respectivamente. El ITNAN más frecuentemente empleado en las distintas pautas terapéuticas fue efavirenz, que representaba el 86,3% de las determinaciones de ITNAN (Figura 15).

Las muestras se obtuvieron una media de 12 horas tras la última toma del fármaco (DT 1,3 horas).

Figura 15. Descripción del tipo de fármacos antirretrovirales analizados (y número total de determinaciones), al inicio del seguimiento.



EFV: efavirenz; NVP: nevirapina; LPV/r: lopinavir/ritonavir; NFV: nelfinavir; ATV: atazanavir; SQV: saquinavir; TMC-114: darunavir; TPV: tipranavir; APV: amprenavir; RTV: ritonavir.

■ ITNAN. ■ IP.

A su entrada en el estudio, 42 de las muestras (27,1%) tenían niveles de antirretrovirales infraterapéuticos y 22 muestras (14,2%) tenían niveles plasmáticos en rango tóxico. Sólo el 58,7% de las muestras tenían concentraciones plasmáticas adecuadas. No se hallaron diferencias entre pacientes *naïve* y pre-tratados ($p = 0,54$).

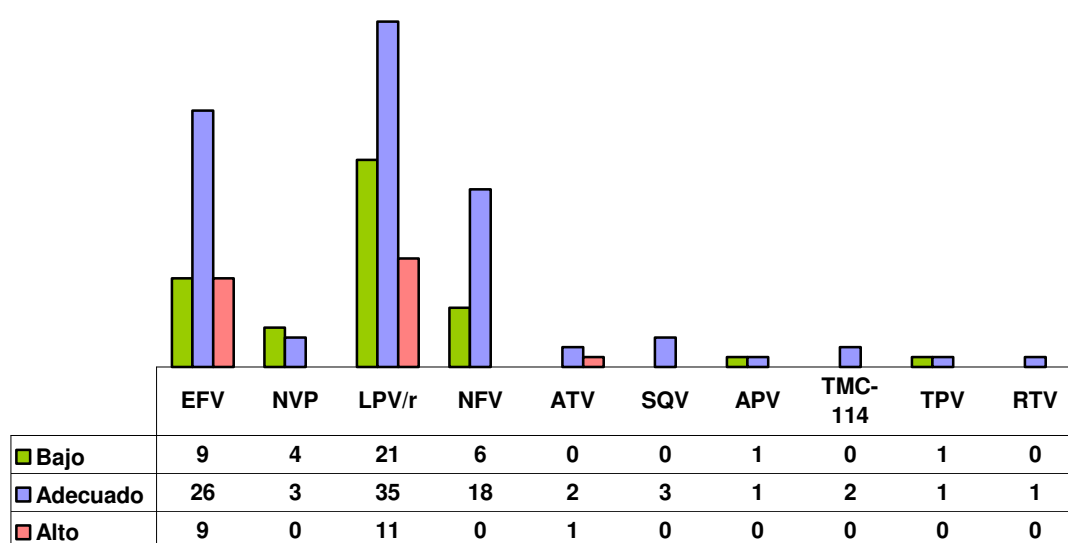
Considerando el tipo de ARV analizado, de entre los ITNAN, el 25,5 % tenían nivel plasmático bajo, el 56,9% adecuado y el 17,6% alto. De entre los IP, el 27,9% estaban en rango infraterapéutico, el 59,6% adecuado y el 12,5% en rango tóxico. El test Ji cuadrado no evidenció diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos ($p = 0,68$).

Atendiendo al tipo de fármaco y considerando los fármacos más frecuentemente analizados, se observó que el 59% de las determinaciones de efavirenz se

encontraban dentro del rango terapéutico establecido. En el caso de lopinavir/ritonavir, el 52,2% y, en el caso de nelfinavir, el 75% de los niveles eran adecuados.

La distribución de las concentraciones plasmáticas, se detalla en la Figura 16.

Figura 16. Distribución de las determinaciones de niveles plasmáticos de los distintos antirretrovirales analizados, clasificándolos como infraterapéuticos, en rango o supratrapéuticos.



EFV: efavirenz; NVP: nevirapina; LPV/r: lopinavir/ritonavir; NFV: nelfinavir; ATV: atazanavir; SQV: saquinavir; APV: amprenavir; TMC-114: darunavir; TPV: tipranavir; RTV: ritonavir.

El nivel plasmático medio de cada uno de los fármacos se especifica en la Tabla 14.

Tabla 14. Descripción de las concentraciones plasmáticas determinadas al inicio del estudio, para cada uno de los fármacos.

Fármaco	Concentración plasmática (ng/ml)		
	Mediana	P ₂₅	P ₇₅
RTV	2.644	2.644	2.644
SQV	594	152	675
NFV	2.007	1.330	2833
APV	12.744	50	12.744
LPV/r	4.952	213	8285

Tabla 14. Continuación de la tabla anterior.

Fármaco	Concentración plasmática (ng/ml)		
	Mediana	P ₂₅	P ₇₅
ATV	991	608	1069
TPV	26.471	10.667	55.077
TMC-114	3.648	50	4941
NVP	4.691	2.847	6.875
EFV	2.396	1.739	3.383

P₂₅: percentil 25; P₇₅: percentil 75; EFV: efavirenz; NVP: nevirapina; LPV/r: lopinavir/ritonavir; NFV: nelfinavir; ATV: atazanavir; SQV: saquinavir; APV: amprenavir; TMC-114: darunavir; TPV: tipranavir; RTV: ritonavir.

Analizando las concentraciones plasmáticas de los fármacos estudiados con mayor frecuencia (efavirenz, lopinavir y nelfinavir), la variabilidad interpaciente resultó elevada (Tabla 15).

Tabla 15. Variabilidad interpaciente en las concentraciones plasmáticas de efavirenz, lopinavir y nelfinavir.

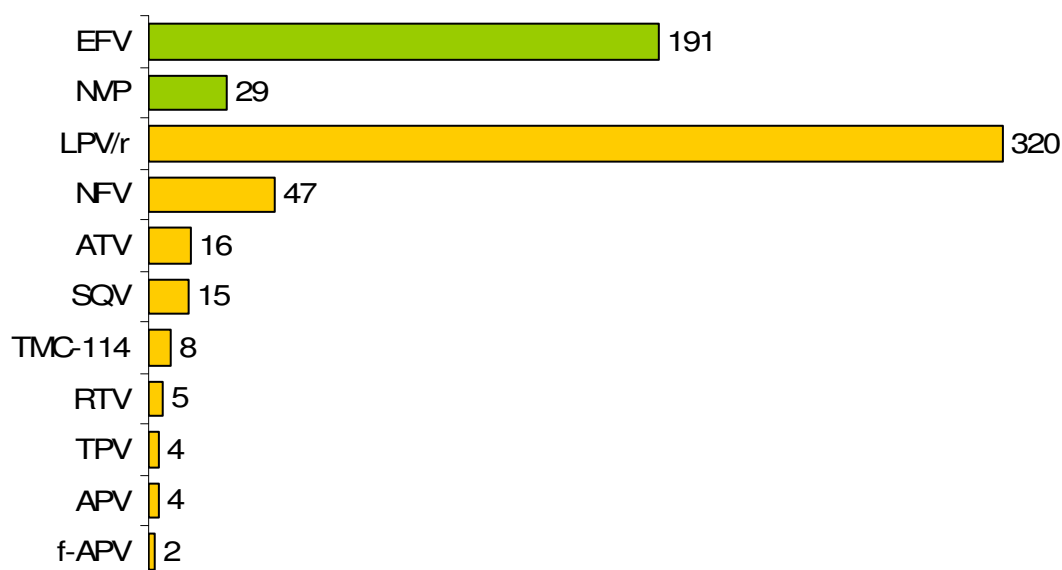
Fármaco	Nº de muestras	Concentración (ng/ml)		Varianza	DT	CV
		Media	Mediana			
Efavirenz	44	2781	2306	4329296	2080	74,7%
Lopinavir	67	5726	5503	24905183	4990	87,1%
Nelfinavir	24	2105	2321	2733092	1653	78,5%

DT: desviación típica; CV: coeficiente de variación.

4.4 ANÁLISIS DE LAS CONCENTRACIONES PLASMÁTICAS DE ANTIRRETROVIRALES A LO LARGO DE LOS 28 MESES DE SEGUIMIENTO.

Durante los 28 meses de duración del estudio, se realizaron un total de 641 determinaciones de niveles plasmáticos de ARV a los 129 pacientes. 421 correspondieron a concentraciones de IP y 220 a concentraciones de ITNAN. Las determinaciones de cada ARV concreto se distribuían tal y como se refleja en la Figura 17.

Figura 17. Descripción del tipo de fármacos antirretrovirales analizados (y número total de determinaciones), durante los 28 meses de seguimiento.

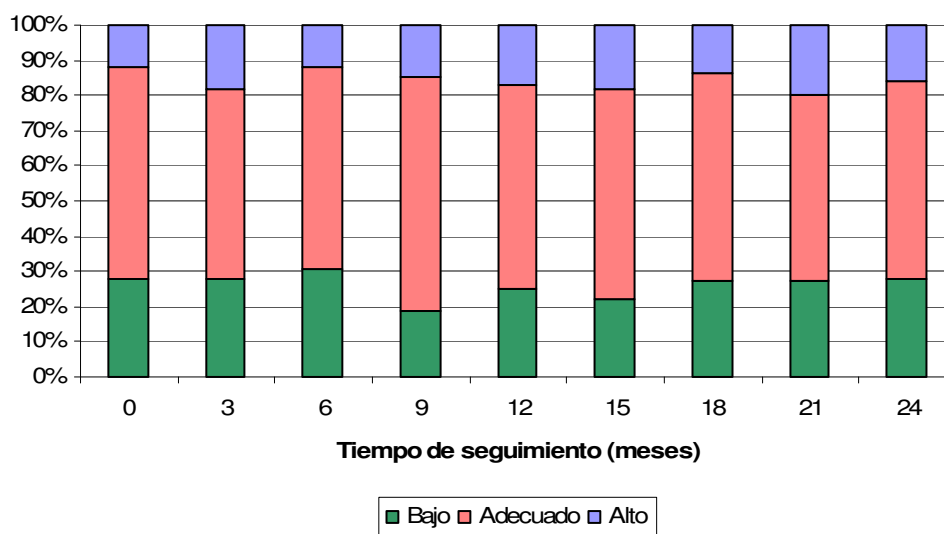


EFV: efavirenz; NVP: nevirapina; LPV/r: lopinavir/ritonavir; NFV: nelfinavir; ATV: atazanavir; SQV: saquinavir; TMC-114: darunavir; TPV: tipranavir; APV: amprenavir; f-APV: fosamprenavir; RTV: ritonavir.

■ ITNAN. ■ IP.

El porcentaje de niveles infraterapéuticos, adecuados y supratерapéuticos evolucionó del modo que se detalla en la Figura 18.

Figura 18. Descripción de la evolución del porcentaje de los distintos rangos de concentraciones plasmáticas de ARV, a lo largo del seguimiento.

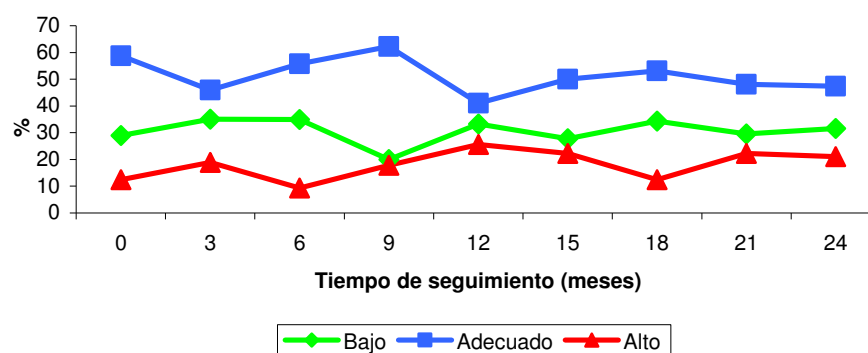


Teniendo en cuenta los grupos farmacológicos de IP e ITNAN por separado, la evolución del porcentaje de concentraciones plasmáticas en cada rango terapéutico fue la detallada en la Figura 19. En el grupo de IP, el porcentaje de determinaciones con niveles infraterapéuticos se mantuvo relativamente estable, a lo largo del seguimiento (29,2% al inicio y 30% al final del estudio). Se encontró una tendencia a la disminución del porcentaje de concentraciones en rango terapéutico (45% al final del seguimiento, respecto al 58,5% en el momento basal) y un aumento del porcentaje de concentraciones supraterapéuticas (25%, respecto al 12,1% inicial).

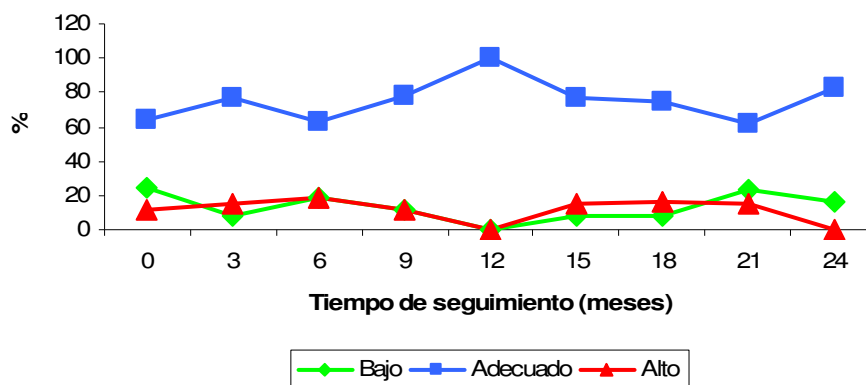
En el grupo de ITNAN, se objetivó un claro aumento de la proporción de concentraciones plasmáticas adecuadas desde el inicio del estudio (56,8%), hasta el último mes de seguimiento (75%). La proporción final de concentraciones subóptimas (12,5%) resultó menor que dicha proporción al inicio del seguimiento (27,2%). El porcentaje de niveles tóxicos al final del estudio (12,5%) también resultó menor que el basal (15,9%).

Figura 19. Detalle de la evolución del porcentaje de los distintos rangos de concentraciones plasmáticas de ARV, a lo largo del seguimiento para el grupo de IP (A) y para el grupo de ITNAN (B).

(A)



(B)



En la Tabla 16, se describe el porcentaje de determinaciones plasmáticas para cada rango terapéutico y para cada grupo de fármacos a los 0, 6, 12, 18 y 24 meses de seguimiento. No se hallaron diferencias estadísticamente significativas en los porcentajes de cada grupo terapéutico a lo largo de los meses de seguimiento.

Tabla 16. Descripción de los porcentajes de concentraciones plasmáticas de ARV infraterapéuticas, adecuadas y supratерapéuticas, para cada grupo farmacológico, a los 0, 6, 12, 18 y 24 meses del seguimiento.

Nivel plasmático		Meses de seguimiento				
		0	6	12	18	24
IP	Bajo	28,9 %	34,9%	33,3%	34,4%	31,6%
	Adecuado	58,8%	55,8%	41%	53,1%	47,4%
	Alto	12,4%	9,3%	25,6%	12,5%	21,1%
ITNAN	Bajo	24%	18,8%	0%	8,3%	16,7%
	Adecuado	64%	62,5%	100%	75%	83,3%
	Alto	12%	18,8%	0%	16,7%	0%

IP: inhibidores de la proteasa; ITNAN: inhibidores de la transcriptasa inversa no análogos de los nucleósidos.

La evolución de los niveles plasmáticos de los ARV en los que se realizaron más de cinco determinaciones, se detalla en la Tabla 17. En la Figura 20, además, se describe, de forma gráfica, la relación con el rango terapéutico establecido para este estudio.

Tabla 17. Distribución de las concentraciones plasmáticas de los ARV más frecuentemente analizados, en función del rango terapéutico establecido para el estudio, a lo largo de los meses de seguimiento (expresado en número de muestras y porcentaje).

Fármaco	Rango de concentración plasmática	Mes de seguimiento								
		0	3	6	9	12	15	18	21	24
EFV	IT	8	2	5	1	0	1	3	3	0
		(21,6%)	(12,5%)	(23,8%)	(6,7%)	(0%)	(5,9%)	(18,8%)	(20%)	(0%)
	T	22	12	12	12	17	13	11	10	5
		(59,5%)	(75%)	(57,2%)	(80%)	(94,4%)	(76,5%)	(68,8%)	(66,7%)	(83,3%)
	ST	7	2	4	2	1	3	2	2	1
		(18,9%)	(12,5%)	(19%)	(13,3%)	(5,6%)	(17,6%)	(12,4%)	(13,3%)	(16,7%)
NVP	IT	4	0	0	1	0	0	0	0	1
		(57,1%)	(0%)	(0%)	(33,3%)	(0%)	(0%)	(0%)	(0%)	(50%)
	T	3	0	3	2	3	3	2	1	1
		(42,9%)	(0%)	(100%)	(66,7%)	(100%)	(100%)	(100%)	(100%)	(50%)
LPV/r	IT	21	9	13	8	13	11	10	8	5
		(33,3%)	(36%)	(44,8%)	(23,5%)	(40,6%)	(35,5%)	(38,5%)	(34,8%)	(27,8%)
	T	31	9	13	20	11	15	12	11	8
		(49,2%)	(36%)	(44,8%)	(58,8%)	(34,4%)	(48,4%)	(46,2%)	(47,8%)	(44,4%)
	ST	11	7	3	6	8	5	4	4	5
		(17,5%)	(28%)	(10,4%)	(17,7%)	(25%)	(16,1%)	(15,3%)	(17,4%)	(27,8%)

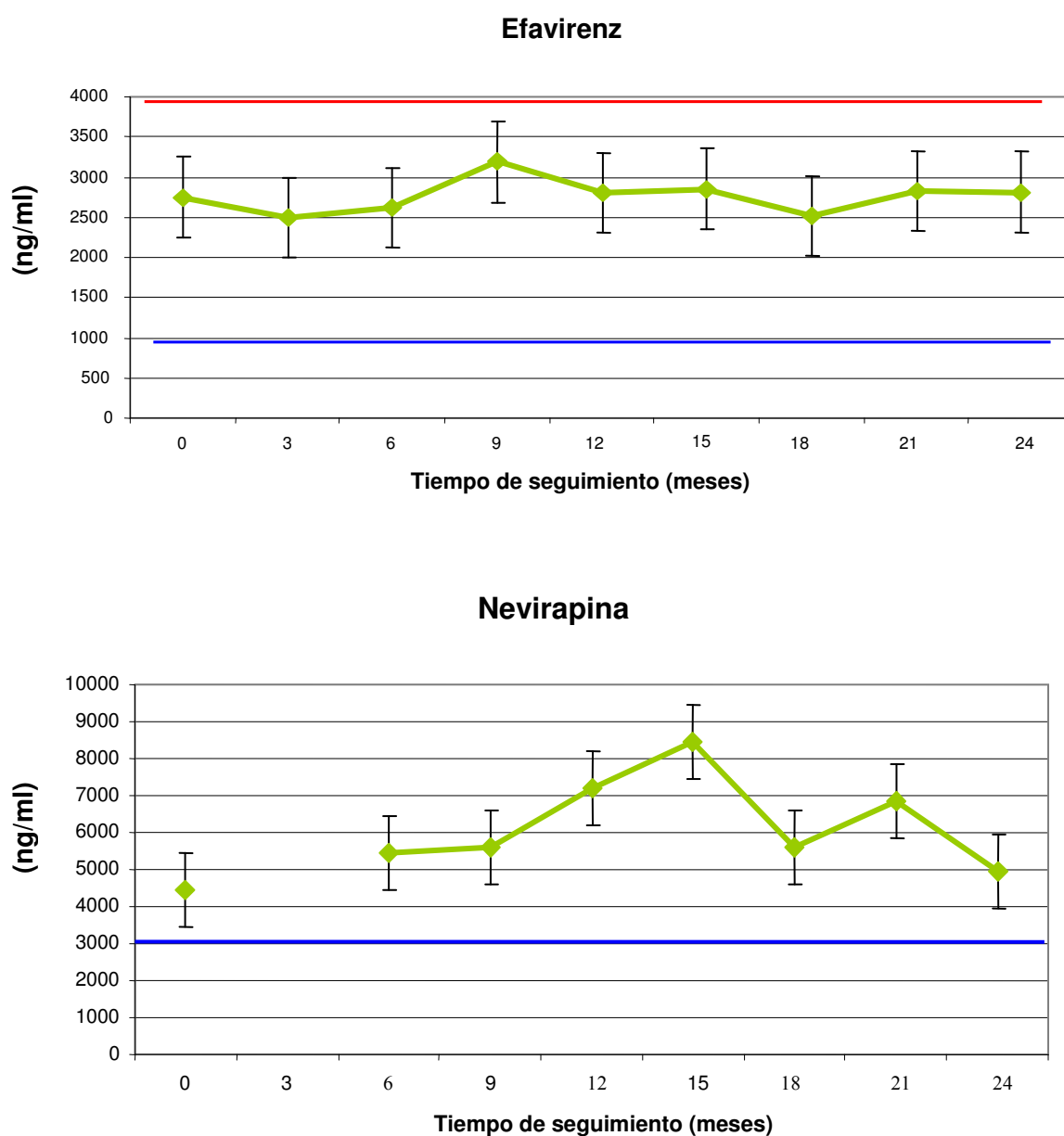
Tabla 17. Continuación de la tabla anterior.

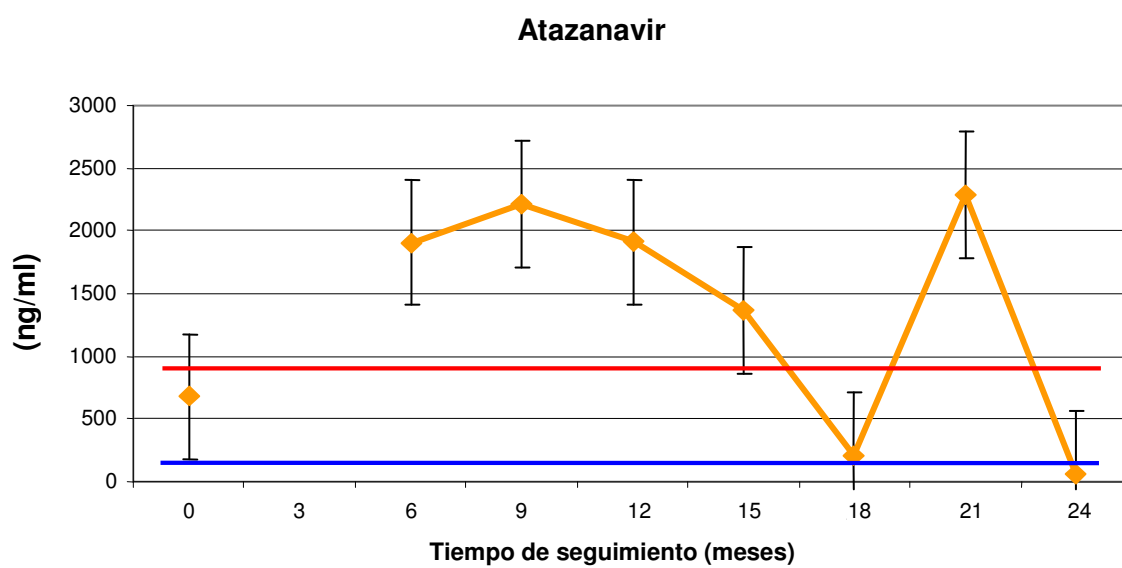
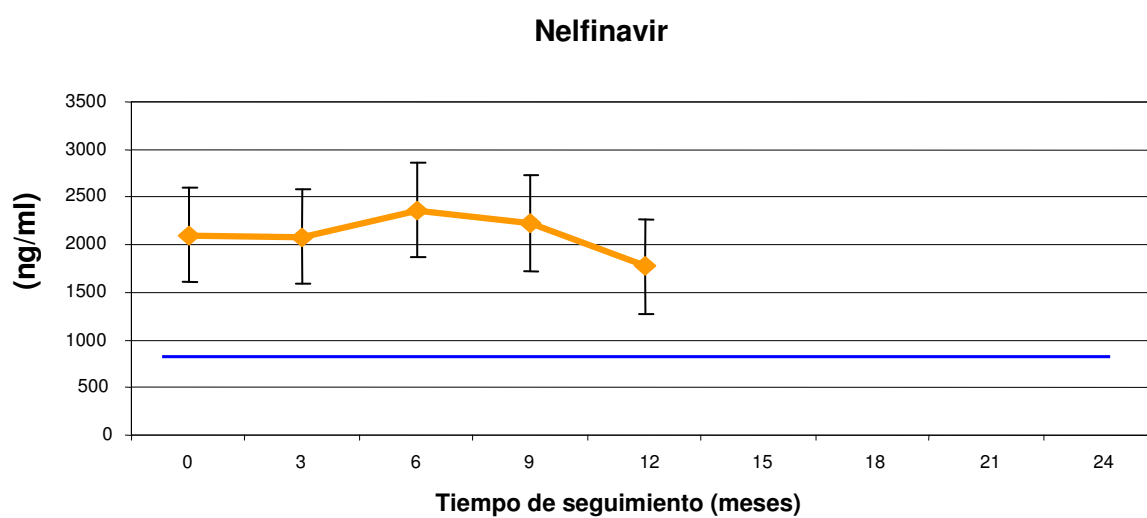
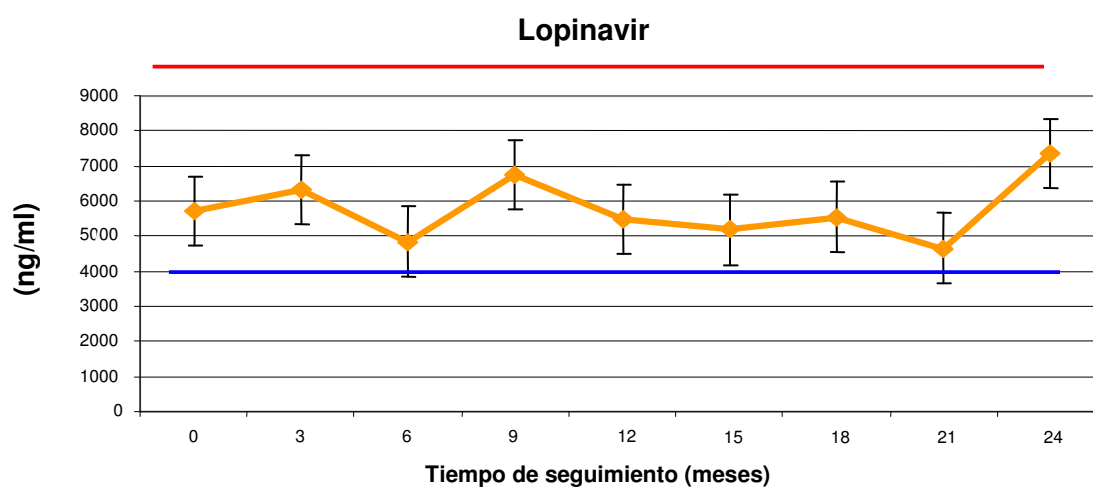
Fármaco	Rango de concentración plasmática	Mes de seguimiento								
		0	3	6	9	12	15	18	21	24
NFV	IT	6 (25%)	2 (25%)	1 (12,5%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
	T	18 (75%)	6 (75%)	7 (87,5%)	5 (100%)	1 (100%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
ATV	IT	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (100%)
	T	2 (66,7%)	0 (0%)	1 (50%)	0 (0%)	1 (33,3%)	0 (0%)	1 (100%)	0 (0%)	0 (0%)
	ST	1 (33,3%)	0 (0%)	1 (50%)	2 (100%)	2 (66,7%)	2 (100%)	0 (0%)	2 (100%)	0 (0%)
SQV	IT	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
	T	3 (100%)	2 (100%)	1 (100%)	2 (100%)	3 (100%)	1 (100%)	1 (100%)	2 (100%)	0 (0%)
TMC-114	IT	0 (0%)	1 (100%)	1 (100%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
	T	2 (100%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	2 (100%)	1 (100%)	0 (0%)	0 (0%)

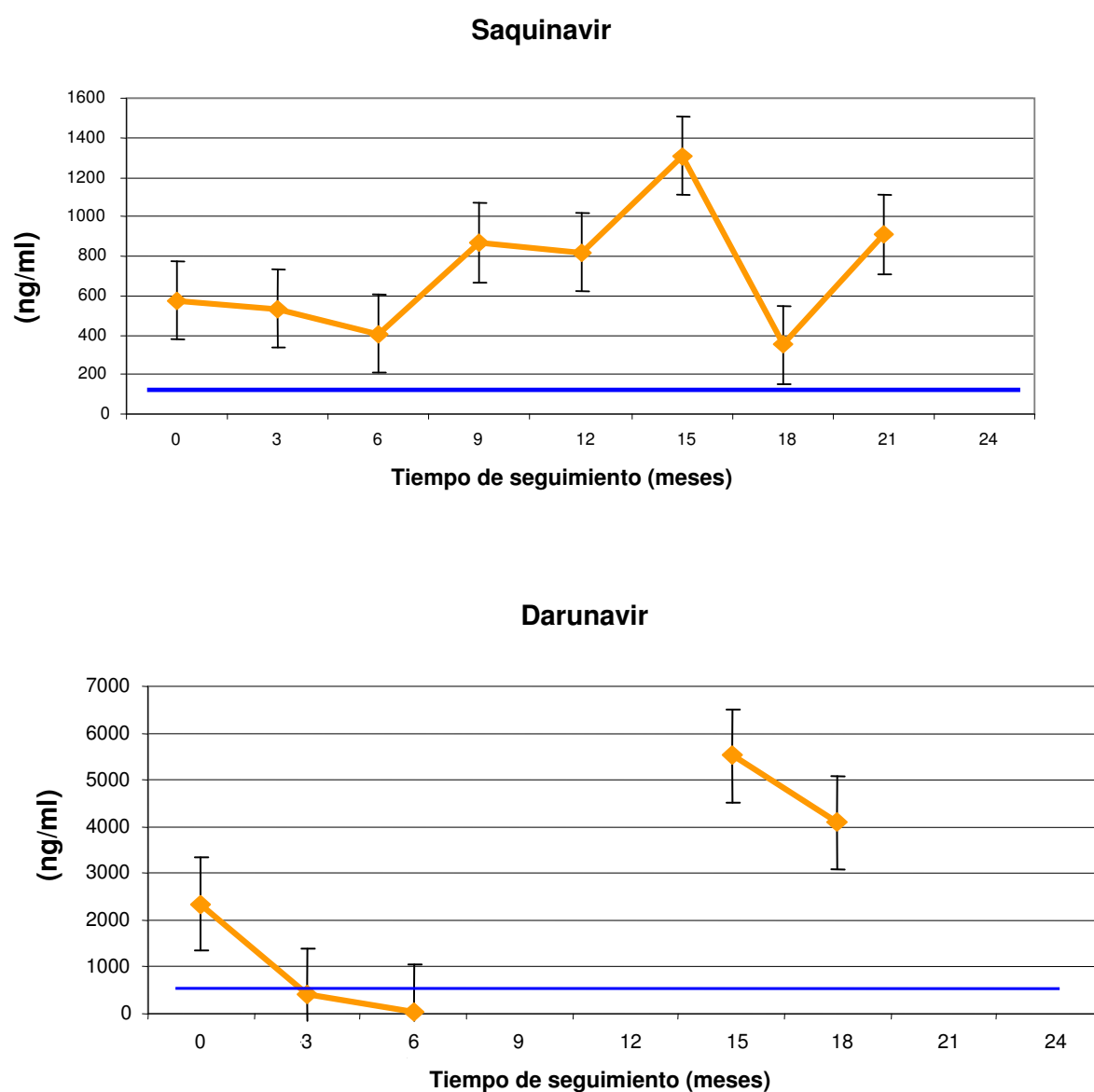
IT: infraterapéutica; T: terapéutica; ST: supraterapéutica; EFV: efavirenz; NVP: nevirapina; LPV/r: lopinavir/ritonavir; NFV: nelfinavir; ATV: atazanavir; SQV: saquinavir; TMC-114: darunavir.

Figura 20. Descripción de la evolución del promedio de las concentraciones plasmáticas (medidas en ng/ml) de los ARV analizados con mayor frecuencia, a lo largo del estudio. (Señalado con línea roja: límite superior del rango terapéutico establecido; Señalado con línea azul: límite inferior del rango terapéutico establecido).

■ ITNAN. ■ IP.

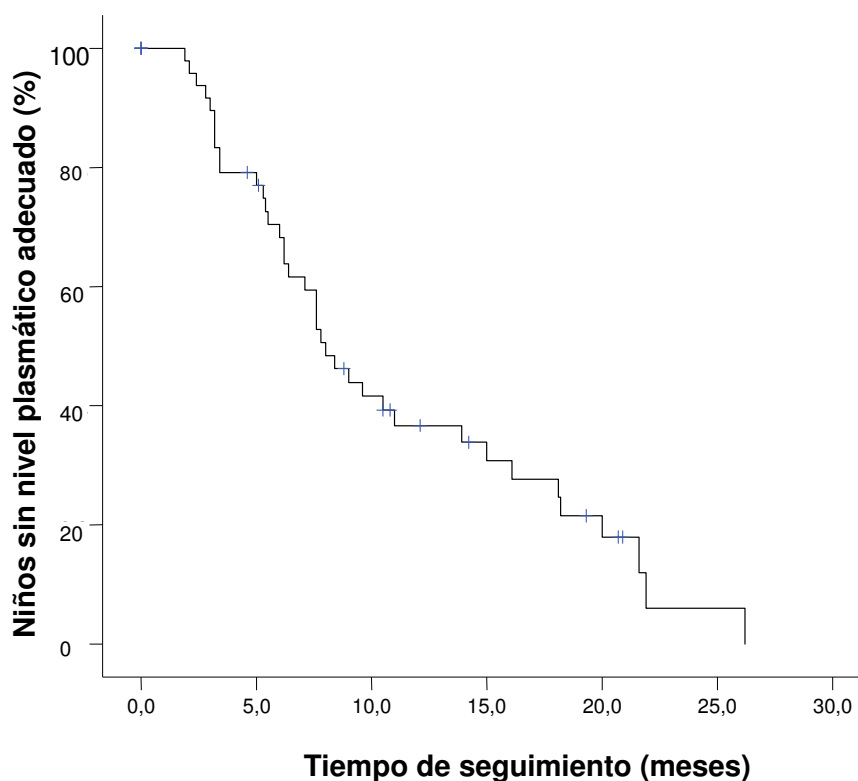






De los pacientes con concentraciones plasmáticas de ARV inadecuadas al inicio del estudio, el tiempo mediano en alcanzar niveles plasmáticos adecuados fue de 8 meses (P_{25} : 18,1 meses y P_{75} : 5,3 meses). La representación gráfica de esta evolución, se detalla en la Figura 21.

Figura 21. Curva de Kaplan-Meier para analizar el tiempo en alcanzar concentraciones plasmáticas de ARV en rango terapéutico en los pacientes de la cohorte.



Para identificar qué factores basales podían influir en la presencia de concentraciones plasmáticas adecuadas de ARV a los 12 y 24 meses del seguimiento, se realizó una regresión logística para calcular la odds ratio (OR). Se consideró la presencia de niveles plasmáticos adecuados a los 12 y 24 meses de seguimiento como las variables dependientes. Las variables independientes fueron: edad, género, estadio Tanner, porcentaje de células CD4+, LogCV, presencia de resistencias genotípicas, grado de adherencia al tratamiento en el momento basal y estadio clínico e inmunológico al inicio del seguimiento. En primer lugar se realizó un análisis univariante para identificar los factores pronósticos basales y a continuación un análisis multivariante con las variables más significativas: edad, género, porcentaje de células CD4+, LogCV, resistencias genotípicas y grado de adherencia. Los resultados obtenidos en el análisis se resumen en la Tabla 18

donde se observa cómo ninguno de los factores analizados influyó en la presencia de niveles plasmáticos adecuados a los 12 y 24 meses, en la cohorte de niños estudiada.

Tabla 18. Resumen de la regresión logística empleada para identificar los factores basales pronósticos de nivel plasmático adecuado de ARV a los 12 y 24 meses del seguimiento.

Análisis multivariante	12 meses	24 meses
	OR (IC del 95%)	OR (IC del 95%)
Edad (años)	1,1 (0,9-1,3)	0,8 (0,6-1,0)
Género	2,5 (0,4-14,3)	1,1 (0,1-11,9)
% de linfocitos T CD4+	0,9 (0,8-1,0)	1,0 (0,9-1,2)
LogCV	1,0 (0,2-4,2)	0,2 (0,0-4,1)
Resistencias genotípicas	2,1 (0,1-31,5)	0,1 (0,0-24,7)
Grado de adherencia	0,5 (0,1-1,8)	0,3 (0,0-4,7)

OR: odds ratio; IC: intervalo de confianza; LogCV: logaritmo decimal de la carga viral.

Las concentraciones plasmáticas de atazanavir resultaron supratrapéuticas en la mayoría de los casos. De los 5 pacientes que recibían tratamiento con este IP, todos se encontraban en su 3ª o superior línea de tratamiento y recibían tratamiento con ritonavir como potenciador. Se analizaron sus características y se compararon con las del resto de individuos del estudio. Ambos grupos tenían características similares (Tabla 19).

Tabla 19. Descripción de las características clínicas y analíticas iniciales de los grupos de pacientes con y sin tratamiento con atazanavir.

Características basales		Tratamiento con ATV		Valor p
		SÍ	NO	
Sexo	Niño	0	58	0,039
	Niña	5	66	
Tanner	1	0	51	0,031
	2	0	20	
	3	2	9	
	4	1	7	
	5	2	37	
Estadio clínico	A	0	53	0,25
	B	3	34	
	C	2	37	
Estadio inmunológico	1	0	31	0,29
	2	1	35	
	3	4	58	
Adherencia	Buena	3	85	0,53
	Regular	2	27	
	Mala	0	12	
Lipodistrofia	Sí	2	38	0,65
	No	3	86	
Edad media (meses)		93,3	63,8	0,08
Linfocitos CD4 (%)		27 (DT 4)	31 (DT 9)	0,38
Linfocitos CD8 (%)		36 (DT 8)	39 (DT 12)	0,64
LogCV		2,94 (DT 1,8)	2,28 (DT 0,9)	0,47
GOT (UI/l)		33 (DT 25)	29 (DT 10)	0,74
GPT (UI/l)		31 (DT 24)	23 (DT 13)	0,47
GGT (UI/l)		16 (DT8)	25 (DT 21)	0,32
Colesterol (mg/dl)		165 (DT 44)	181 (DT 43)	0,41
Triglicéridos (mg/dl)		127 (DT 50)	129 (DT 86)	0,96

ATV: atazanavir; LogCV: logaritmo decimal de la carga viral; UI: unidades internacionales; GOT: transaminasa glutámico oxalacética; GPT: transaminasa glutámico pirúvica; GGT: gamma-glutamyl transpeptidasa.

4.5 ESTUDIO DE LOS CAMBIOS EN EL RÉGIMEN TERAPÉUTICO DE LOS PACIENTES A LO LARGO DEL SEGUIMIENTO Y ANÁLISIS DE LA RELACIÓN CON LAS CONCENTRACIONES PLASMÁTICAS DE ARV.

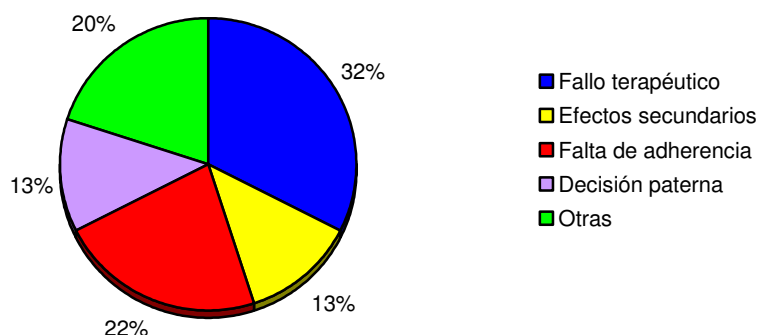
A lo largo del seguimiento, los sujetos del estudio podían mantener el mismo tratamiento que al inicio o realizar cambios en el mismo.

Durante los años que abarcó el estudio, 49 de los 129 pacientes (37,9%) cambiaron de régimen terapéutico. Seis de ellos requirieron 2 cambios terapéuticos y dos preciaron 3 cambios.

No se hallaron diferencias estadísticamente significativas en cuanto al cambio o no del tipo de tratamiento ($p = 0,29$) ni en el número de cambios del régimen terapéutico ($p = 0,44$), entre los pacientes con concentración plasmática inicial adecuada, infra o supraterapéutica.

De los 49 cambios de tratamiento durante el seguimiento, sólo 40 implicaban cambio de IP o ITNAN. Se analizaron los motivos de cambio de régimen TARGA y son los especificados en la Figura 22.

Figura 22. Eventos descritos como causa de cambio del régimen de tratamiento antirretroviral.



Sólo en 5 de los pacientes, la causa de la modificación del régimen terapéutico fueron los efectos secundarios. Tres de los pacientes presentaban efectos gastrointestinales durante el tratamiento con nelfinavir, con nivel plasmático adecuado. Los dos restantes, efectos secundarios neurológicos en el contexto de tratamiento con efavirenz, ambos tenían niveles plasmáticos elevados y suponían el 26,3% de todos los pacientes con niveles elevados de efavirenz, durante el seguimiento. Todos ellos presentaban adherencia al tratamiento buena y evolución inmuno-virológica favorable. El tipo de cambio de tratamiento, se detalla en la Tabla 20.

Tabla 20. Tipo de cambio de pauta terapéutica en los pacientes con cambio de IP o ITNAN, durante el seguimiento.

Tratamiento previo	Tratamiento nuevo	N
2ITAN 1IP	2ITAN 1IP 1ITNAN	4
2ITAN 1IP	2ITAN 1ITNAN	3
2ITAN 1IP	2ITAN 2IP	1
2ITAN 1IP (NFV)	2ITAN 1IP (LPV/r)	12
2ITAN 1IP (LPV/r)	2ITAN 1IP (ATV)	1
2ITAN 1ITNAN	2ITAN 1IP	4
1ITAN 1IP 1IF	1ITAN 1ITNAN 1IP	1
1ITAN 1ITNAN (NVP) 1IP	1ITAN 1ITNAN (EFV) 1IP	1
1ITAN 1ITNAN 1IP (LPV/r)	1ITAN 1ITNAN 1IP (ATV)	2
1ITAN 1ITNAN 1IP (NFV)	1ITAN 1ITNAN 1IP (LPV/r)	4
1ITAN 1ITNAN 1IP (NFV)	1ITAN 1ITNAN 1IP (ATV)	1
1ITAN 1ITNAN 1IP	1ITAN 2ITNAN 1IP	1
2ITAN 1ITNAN 1IP (NFV)	2ITAN 1ITNAN 1IP (LPV/r)	1
2ITAN 1ITNAN 1IP	1ITAN 1ITNAN 1IP 1IF	1
2ITAN 1ITNAN 1IP	2ITAN 1IP	1
3ITAN 1IP	3ITAN 1ITNAN 1IP	1
3ITAN 1IP (NFV)	3ITAN 1IP (LPV/r)	1

N: número de cambios; ITAN: inhibidores de la transcriptasa inversa análogos de los nucleósidos; ITNAN: inhibidores de la transcriptasa inversa no análogos de los nucleósidos; IP: inhibidores de la proteasa; IF: inhibidores de la fusión; NFV: nelfinavir; LPV/r: lopinavir/ritonavir; ATV: atazanavir; NVP: nevirapina; EFV: efavirenz.

Los niños que cambiaron de régimen terapéutico tenían una edad media en el momento del abandono de 11,1 años (DT: 4,1 años) y los niños que mantenían el tratamiento tenían una edad media de 11,3 años cuando finalizó el estudio (DT: 4,7 años). Los cambios de terapia se produjeron tras una media de seguimiento de 21,5 meses (DT: 4,8 meses) y el tiempo medio de tratamiento con el régimen terapéutico que se modificó era de 31,9 meses (DT: 30,4 meses).

Las características basales de los pacientes que cambiaron de régimen terapéutico en comparación con las del grupo que mantuvo la terapia inicial, se resumen en la Tabla 21. No se hallaron diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos.

Tabla 21. Descripción de las características clínicas y analíticas iniciales de los grupos de pacientes en los que se realizó o no cambio terapéutico.

Características basales		Cambios en el tratamiento		Valor p
		SÍ	NO	
Sexo	Niño	20	38	0,45
	Niña	29	42	
Tanner	1	20	31	0,87
	2	7	13	
	3	5	6	
	4	4	4	
	5	13	26	
Estadio clínico	A	18	35	0,28
	B	18	19	
	C	13	26	
Estadio inmunológico	1	12	19	0,14
	2	9	27	
	3	28	34	
Adherencia	Buena	31	57	0,56
	Regular	12	17	
	Mala	6	6	

Tabla 21. Continuación de la tabla anterior.

Características basales		Cambios en el tratamiento		Valor p
		SÍ	NO	
Nivel plasmático	Bajo	20	22	0,21
	Adecuado	29	62	
	Alto	8	14	
Lipodistrofia	Sí	17	23	0,47
	No	32	57	
Edad media (meses)		13,3 (DT 4,2)	12,9 (DT 4,4)	0,49
Linfocitos CD4 (%)		29,5 (DT 8,8)	31,4 (DT 9,3)	0,18
Linfocitos CD8 (%)		38,5 (DT 12,8)	38,6 (DT 11,7)	0,59
LogCV		2,3 (DT 1,1)	2,2 (DT 0,9)	0,92
GOT (UI/l)		29 (DT 7,7)	29 (DT 12,9)	0,24
GPT (UI/l)		22,7 (DT 11,6)	22,9 (DT 14,8)	0,36
GGT (UI/l)		27,1 (DT 25,8)	23,7 (DT 17,4)	0,14
Colesterol (mg/dl)		174,4 (DT 32,8)	183,7 (DT 47,5)	0,46
Triglicéridos (mg/dl)		103,9 (DT 65,7)	143,5 (DT 92,1)	0,69

LogCV: logaritmo decimal de la carga viral; UI: unidades internacionales; GOT: transaminasa glutámico oxalacética; GPT: transaminasa glutámico pirúvica; GGT: gamma-glutamyl transpeptidasa.

4.6 ANÁLISIS DE LA EVOLUCIÓN DE PARÁMETROS CLÍNICOS Y ANALÍTICOS A LO LARGO DE LOS 28 MESES DE SEGUIMIENTO Y DE SU RELACIÓN CON LAS CONCENTRACIONES PLASMÁTICAS DE ARV.

4.6.1 NIVELES PLASMÁTICOS DE ARV Y PERFIL LIPÍDICO.

Para este análisis, se excluyeron dos pacientes que recibían tratamiento crónico con atorvastatina.

Los signos de lipodistrofia resultaron ligeramente superiores en el grupo de pacientes con niveles plasmáticos supratrapéuticos (22,8%), que en el grupo con niveles infratrapéuticos (16,9%) y adecuados (20,5%), sin existir diferencias

estadísticamente significativas ($p = 0,46$). Tampoco se hallaron diferencias al analizar por separado el grupo de niveles de IP ($p = 0,25$) e ITNAN ($p = 0,70$).

Entre los pacientes con signos de lipodistrofia, los que tenían niveles supraterapéuticos presentaban mayor porcentaje de lipodistrofia grave (38,1%) que los que tenían niveles adecuados (13,9%) o bajos (11,1%) ($p = 0,015$). Al analizar los grupos terapéuticos por separado, encontramos la misma tendencia, que resultó estadísticamente significativa en el grupo de niños tratados con IP ($p = 0,039$) y no significativa en el grupo de ITNAN ($p = 0,71$).

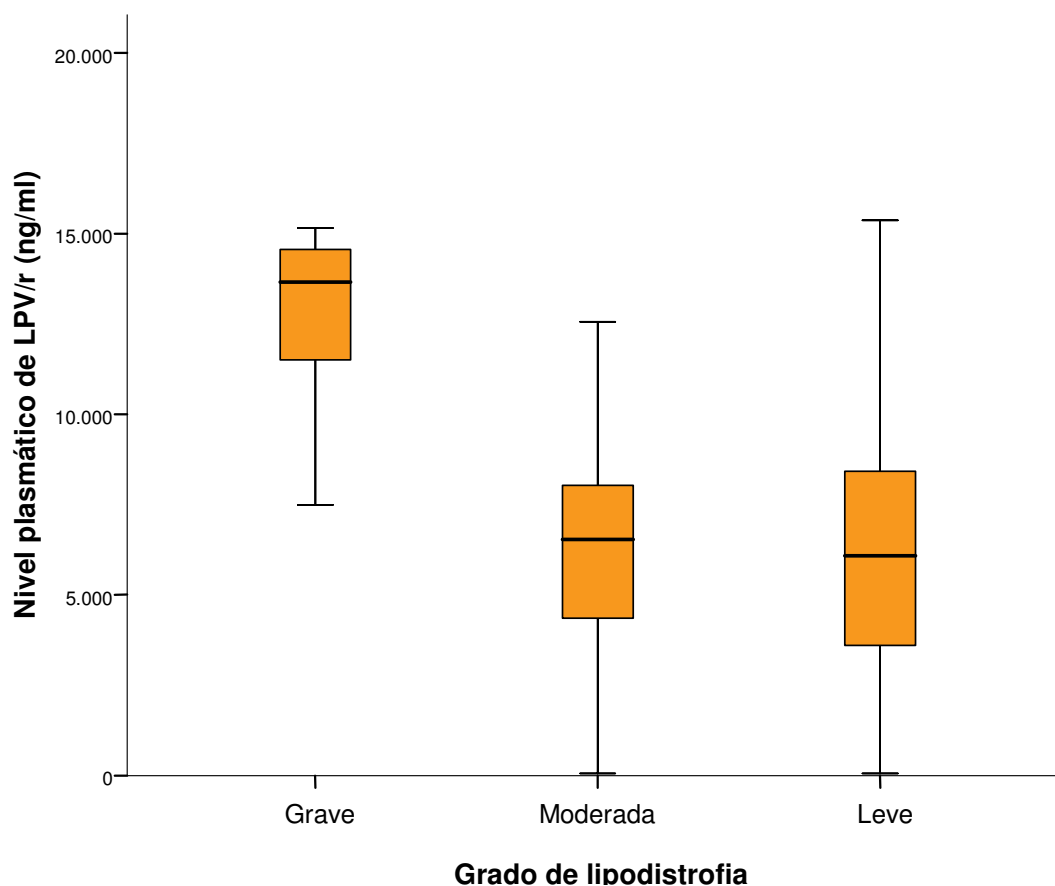
Por otro lado, se analizó el grado de asociación entre niveles de IP y grado de lipodistrofia y se halló que a mayor concentración de IP, mayor grado de lipodistrofia. Sin embargo, la asociación resultó débil (coeficiente de correlación de Spearman: $r_s = 0,214$) y no significativa ($p = 0,06$).

En cuanto a lopinavir/ritonavir, cuyo límite superior de rango plasmático fue establecido en 10.000 ng/ml para el estudio, se encontró que los pacientes con lipodistrofia presentaban niveles plasmáticos medios de LPV/r más elevados (7600 ng/ml) que el resto (5652 ng/ml) ($p = 0,005$).

Así mismo, de entre los pacientes con lipodistrofia, los que presentaban lipodistrofia grave tenían concentraciones plasmáticas medias de LPV/r mayores (13.321 ng/ml) que los pacientes lipodistrofia moderada (6485 ng/ml) y leve (6412 ng/ml), de forma estadísticamente significativa ($p < 0,001$ y $p = 0,001$, respectivamente). Estas diferencias están representadas en la Figura 23.

No se hallaron diferencias estadísticamente significativas en la frecuencia de lipodistrofia en pacientes con y sin tratamiento concomitante con estavudina ($p = 0,169$). Se realizó un análisis univariante para evaluar la presencia de estavudina en el TARGA como factor predictor de lipodistrofia en el momento basal y no se encontró asociación (Odds ratio: 0,8; Intervalo de confianza del 95%: 0,3-2,0; $p = 0,74$).

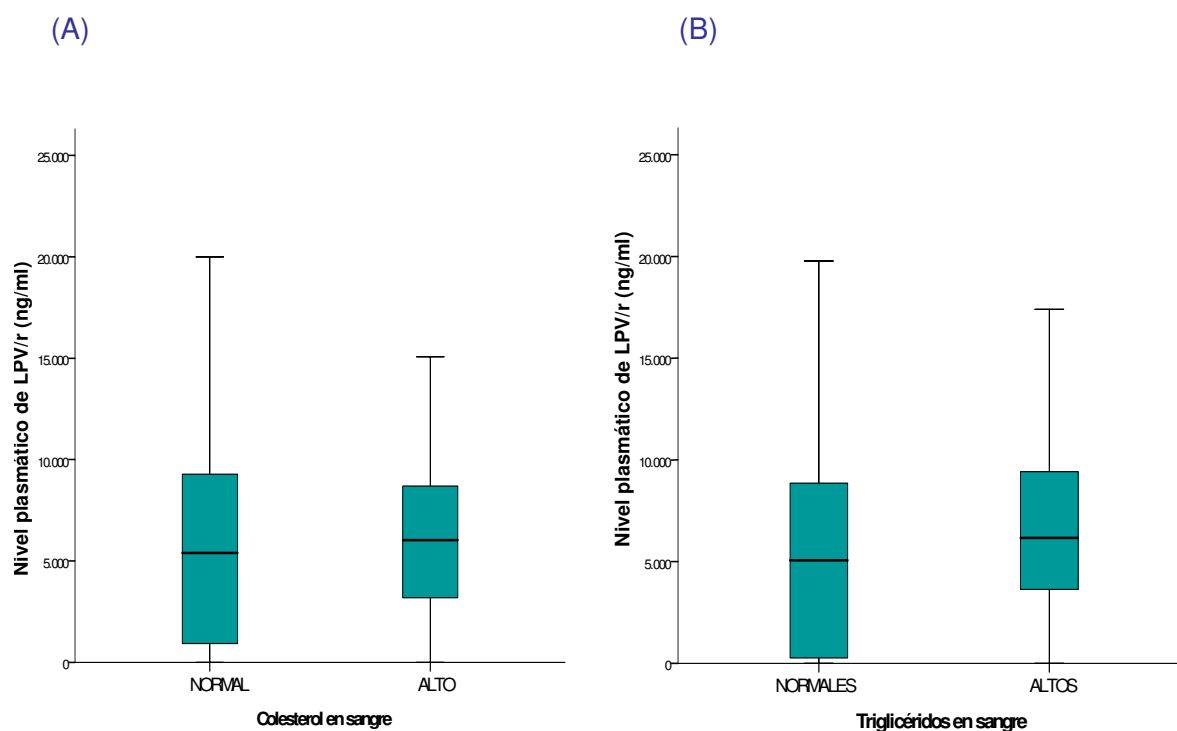
Figura 23. Representación del grado de lipodistrofia en función del nivel plasmático medio de lopinavir/ritonavir (LPV/r).



La media de nivel plasmático de LPV/r también resultó superior en el grupo de pacientes con hipercolesterolemia (6356 ng/ml) que en el grupo sin hipercolesterolemia (5847 ng/ml) ($p = 0,39$).

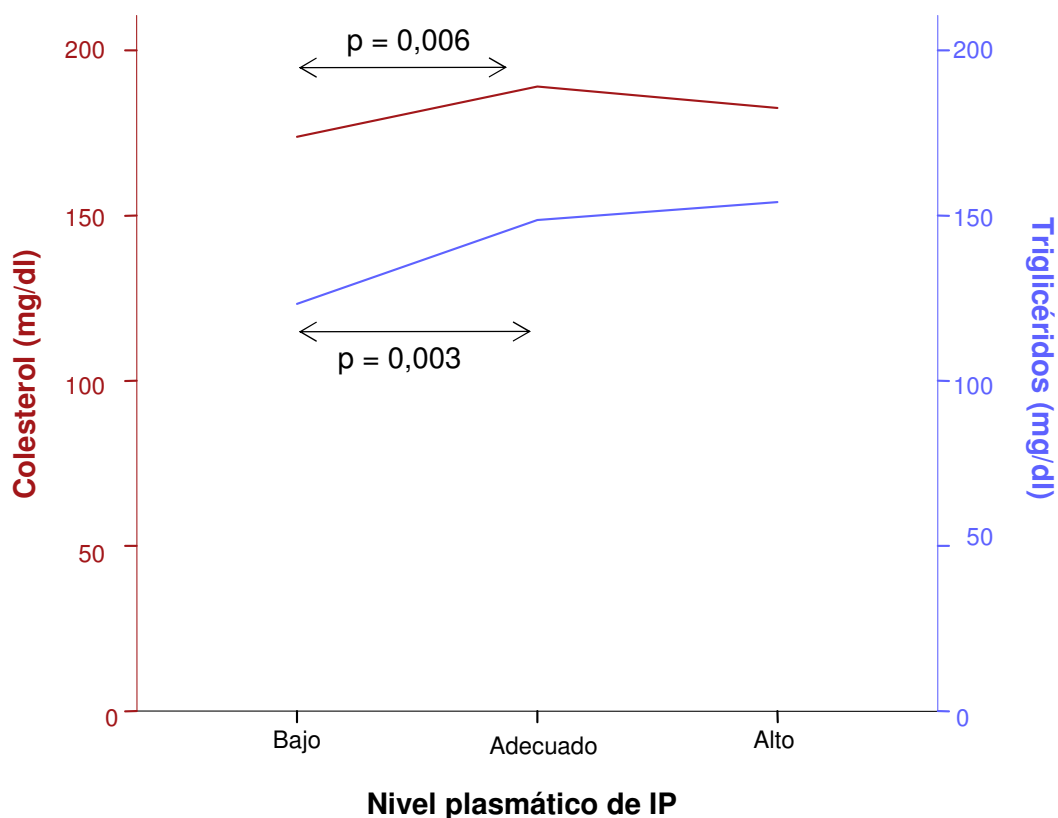
Del mismo modo, la media de concentración plasmática de LPV/r fue superior en el grupo con hipertrigliceridemia (6700 ng/ml) que en el grupo sin elevación de triglicéridos (5479 ng/ml). En este caso, las diferencias sí resultaron estadísticamente significativas ($p = 0,03$) (Figura 24). El análisis de la correlación entre nivel de LPV/r y colesterol y triglicéridos en sangre obtuvo un coeficiente de correlación de r_s : 0,13 y 0,23 respectivamente ($p = 0,02$ y $< 0,001$, respectivamente).

Figura 24. Representación del nivel plasmático medio de lopinavir/ritonavir (LPV/r) en función de la cifra sanguínea de colesterol (A) y de triglicéridos (B).



Respecto al perfil lipídico en el momento inicial del seguimiento, la prueba de Kruskal-Wallis halló diferencias estadísticamente significativas en los niveles sanguíneos de colesterol y triglicéridos, entre los distintos grupos de concentraciones plasmáticas de IP (infraterapéutico, adecuado, supratrapéutico). De modo que las cifras medias de colesterol y triglicéridos en sangre eran inferiores en el grupo de concentraciones plasmáticas bajas de IP que en el resto. Las diferencias resultaron estadísticamente significativas ($p = 0,006$ y $0,003$, respectivamente). Estas diferencias se resumen en la Figura 25. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas al realizar el mismo análisis en el grupo de niveles de ITNAN.

Figura 25. Cifras medias de colesterol total y de triglicéridos en el momento basal del estudio, en función de las concentraciones plasmáticas infraterapéuticas, adecuadas o supraterapéuticas de IP.



Respecto a la evolución de los parámetros analíticos a lo largo de los meses de seguimiento, las cifras en sangre de función hepática y de perfil lipídico se mantuvieron estables a lo largo del estudio, como se representa en la Figura 26.

Las cifras medias de colesterol total se mantuvieron cercanas a los límites normales en todos los grupos y las cifras de triglicéridos resultaron más elevadas, en general, a mayor nivel plasmático del fármaco.

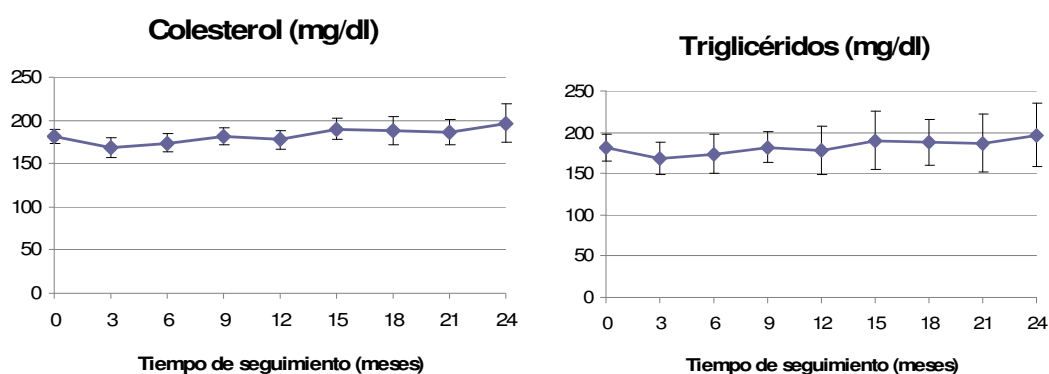
A los 12 meses, un 23,9% de los niños, tenía cifras de colesterol ≥ 200 mg/dl. No obstante, la mediana de colesterol entre aquellos niños que tenían cifras ≥ 200 mg/dl a los 12 meses, fue de 217 mg/dl (P_{25} : 203- P_{75} : 236). A los 24 meses un 33,3% de los pacientes tenían niveles de colesterol ≥ 200 mg/dl. En estos pacientes, la mediana de colesterol fue de 223,5 mg/dl (P_{25} : 217,7- P_{75} : 242,5). A

los 12 meses del seguimiento, 29,5% de los pacientes tenían cifras de triglicéridos >150 mg/dl. En este subgrupo de pacientes, la mediana de triglicéridos fue de 224 mg/dl (P_{25} : 183,5- P_{75} : 297,5). A los 24 meses de seguimiento 41,5% de los pacientes tenían cifras de triglicéridos >150 mg/dl. En este 41,5% de los pacientes, la mediana de triglicéridos fue de 221 mg/dl (P_{25} : 188- P_{75} : 321) (Figura 26-A).

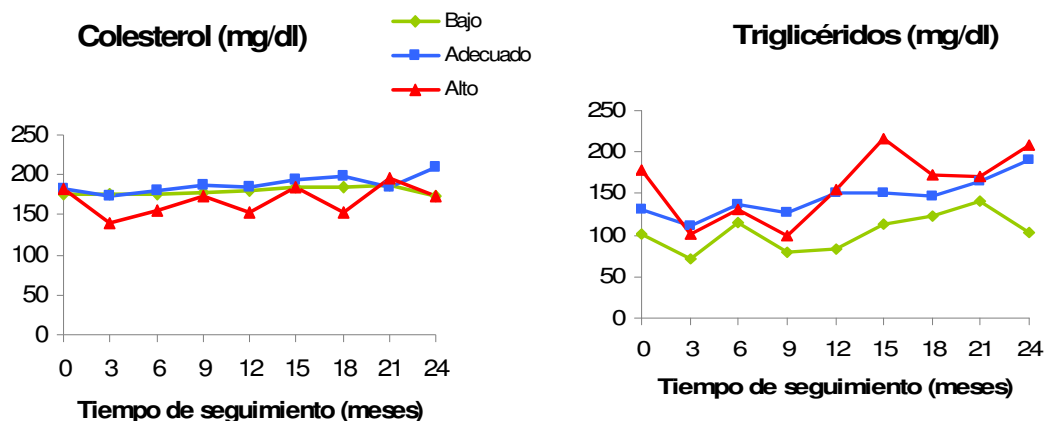
Teniendo en cuenta el tipo de concentración plasmática de IP, las concentraciones medianas de colesterol se mantuvieron muy similares entre los diferentes grupos de rangos plasmáticos, a lo largo del seguimiento. La cifra media de triglicéridos fue similar entre los grupos de nivel plasmático alto y adecuado. Las cifras medias de triglicéridos resultaron menores en el grupo de concentraciones plasmáticas infraterapéuticas de IP en comparación con el grupo de concentraciones elevadas (Figura 26-B), aunque las diferencias no resultaron estadísticamente significativas (p 0,132 a los 15 meses y 0,068 a los 24 meses).

Figura 26. Evolución general de las cifras de colesterol y triglicéridos a lo largo del seguimiento (A) y comparando los pacientes con niveles plasmáticos infraterapéuticos, adecuados y supraterapéuticos de IP (B).

(A)



(B)



Se analizó la asociación entre niveles de IP y cifra de colesterol y triglicéridos y se halló una asociación positiva muy débil (coeficiente de correlación de Spearman: r_s 0,162 y 0,248, respectivamente), aunque significativa ($p = 0,022$ y $< 0,001$, respectivamente).

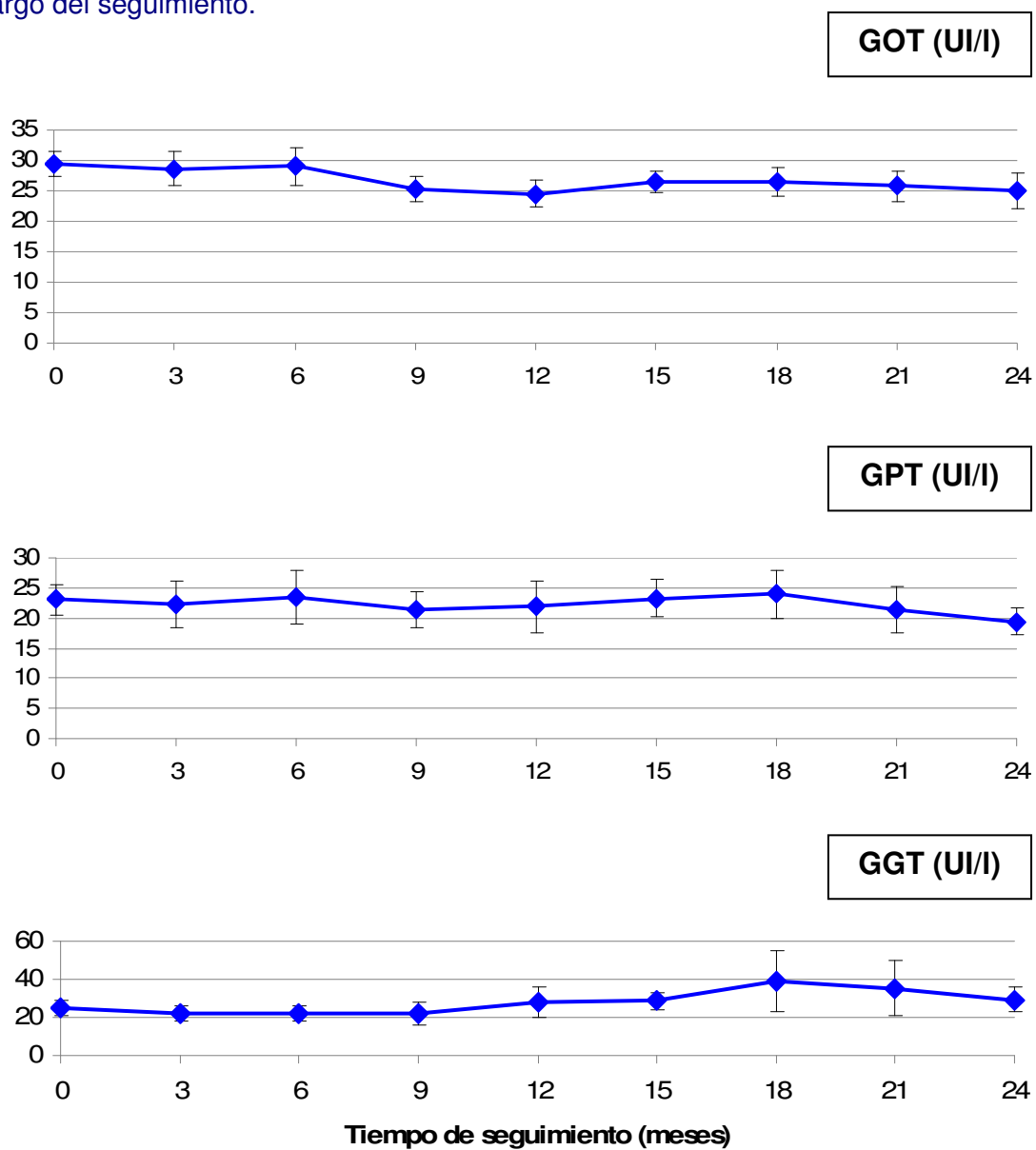
4.6.2 NIVELES PLASMÁTICOS DE ARV Y PARÁMETROS DE FUNCIÓN

HEPÁTICA.

Los parámetros de función hepática se mantuvieron relativamente estables a lo largo de los meses de seguimiento, como se resume en la Figura 27.

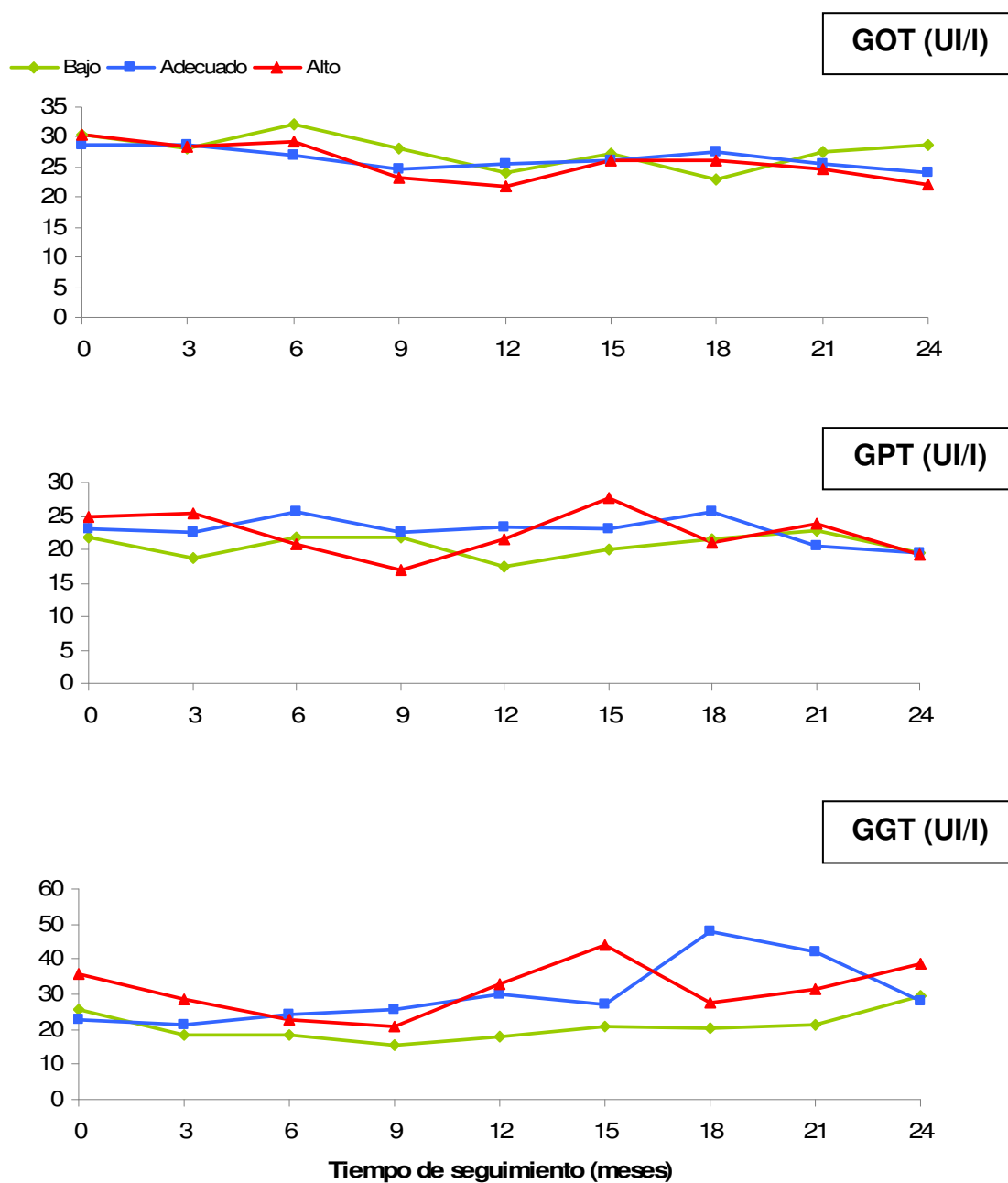
Las cifras medias resultaron similares en los tres grupos de concentraciones plasmáticas de ARV, a lo largo del seguimiento (Figura 28).

Figura 27. Resumen de la evolución de las cifras medias de transaminasas a lo largo del seguimiento.



GOT: transaminasa glutámico oxalacética; GPT: transaminasa glutámico pirúvica; GGT: gamma-glutamil transpeptidasa. UI: unidades internacionales.

Figura 28. Resumen de la evolución de las cifras medias de transaminasas a lo largo del seguimiento, según el grupo de concentraciones plasmáticas infraterapéuticas, adecuadas y supraterapéuticas de ARV.



GOT: transaminasa glutámico oxalacética; GPT: transaminasa glutámico pirúvica; GGT: gamma-glutamil transpeptidasa. UI: unidades internacionales.

Las cifras medias de GOT y GPT fueron similares entre pacientes con y sin nevirapina incluida en su pauta de tratamiento. La cifra media de GGT resultó superior en pacientes con nevirapina incluida en el régimen terapéutico, de forma estadísticamente significativa ($p = 0,001$) (Tabla 22).

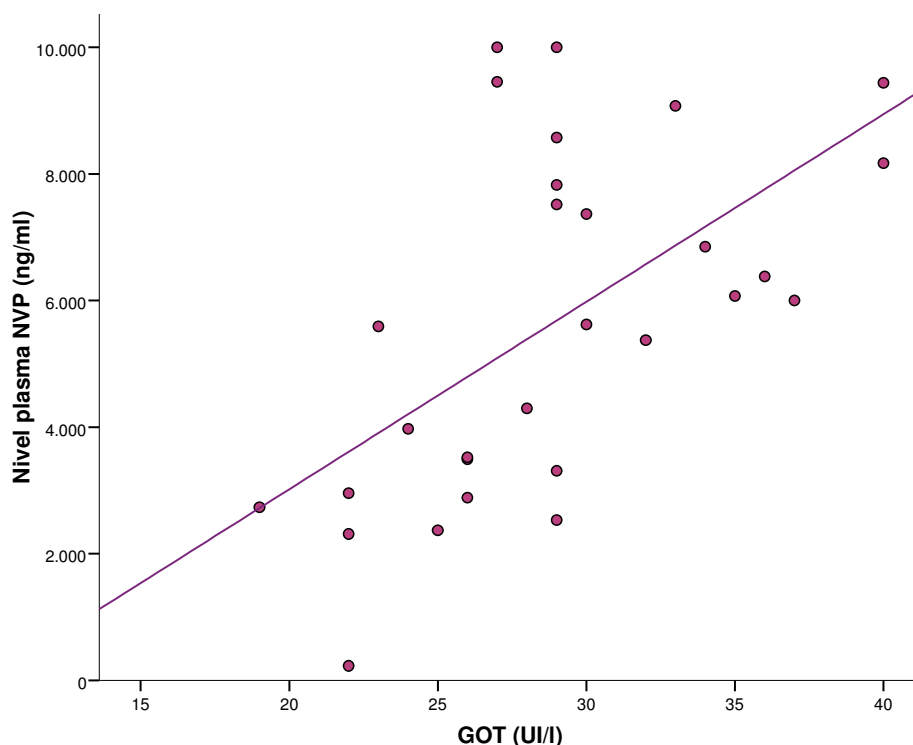
Tabla 22. Cifras medias de transaminasas en pacientes con y sin nevirapina incluido en el TARGA.

Tratamiento con NVP	GOT (UI/l)	GPT (UI/l)	GGT (UI/l)
SÍ	28,9 (DT: 5,3)	28,1 (DT: 20,3)	42,8 (DT: 22,4)
NO	28,2 (DT: 17,1)	23,4 (DT: 15,3)	26,8 (23,1)
Valor p	0,62	0,24	0,001

NVP: nevirapina; GOT: transaminasa glutámico oxalacética; GPT: transaminasa glutámico pirúvica; GGT: gamma-glutamil transpeptidasa. UI: unidades internacionales.

Entre los pacientes que recibían TARGA que incluyera nevirapina, se analizó la correlación entre los niveles de dicho fármaco y los parámetros de función hepática. El coeficiente de correlación entre la concentración plasmática de nevirapina y las cifras de GOT fue de $r_s = 0,6$ ($p = 0,001$). En la Figura 29 se muestra la representación de esta correlación. No se halló correlación estadísticamente significativa entre niveles plasmáticos de nevirapina y cifras de GPT y GGT ($r_s = 0,16$ y $0,19$, respectivamente; $p = 0,30$ y $0,33$, respectivamente).

Figura 29. Representación de la correlación entre nivel plasmático de NVP y cifra sanguínea de GOT.



NVP: nevirapina; GOT: transaminasa glutámico oxalacética. UI: unidades internacionales.

4.6.3 NIVELES PLASMÁTICOS DE ATV Y BILIRRUBINA TOTAL Y GLUCEMIA.

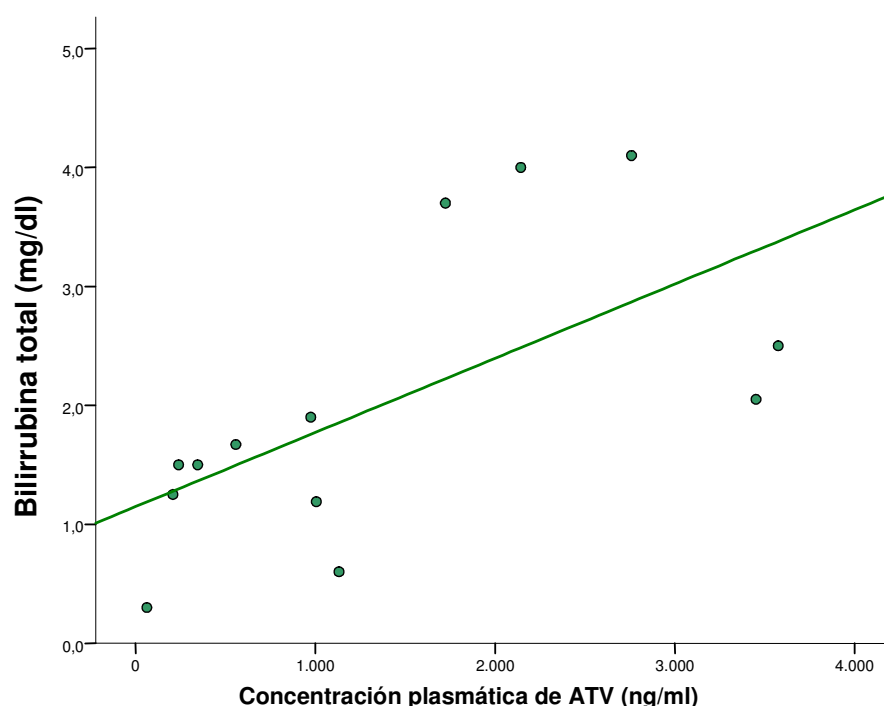
Dada la frecuencia de niveles supratrapéuticos de atazanavir en los pacientes del estudio, se analizó su relación con la existencia de hiperbilirrubinemia e hiperglucemia.

Las cifras medias de bilirrubina total fueron significativamente mayores en el grupo de pacientes cuyo régimen terapéutico incluía ATV (2 mg/dl. Rango: 0,3-4,1 mg/dl) que en el resto de pacientes (0,47 mg/dl. Rango: 0,1-1,4 mg/dl) ($p = 0,001$).

De los pacientes tratados con ATV, la mediana de bilirrubina total fue de 1,2 mg/dl (rango: 0,3-1,7 mg/dl) en niños con concentración plasmática menor de 850 ng/ml y de 2,5 mg/dl (rango: 1,2-4,1 mg/dl) en niños con concentración plasmática mayor de 850 ng/ml. Las diferencias resultaron estadísticamente significativas ($p = 0,037$).

El factor de correlación de Spearman entre el nivel plasmático de ATV y la cifra de bilirrubina total fue de $r_s = 0,72$ ($p = 0,006$). La representación gráfica de esta correlación se muestra en la Figura 30.

Figura 30. Representación de la correlación entre la concentración plasmática de atazanavir (ATV) y las cifras de bilirrubina total.



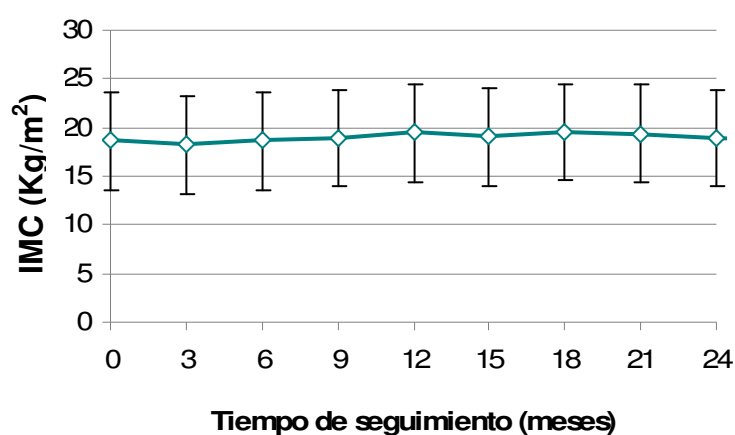
Las cifras medias de glucosa en sangre fueron similares entre el grupo de pacientes cuyo régimen terapéutico incluía ATV (85,5 mg/dl) y el resto de pacientes (85,7 mg/dl) ($p = 0,94$). De los pacientes tratados con ATV, la mediana de glucosa también fue similar entre niños con concentración plasmática menor de 850 ng/ml (83 mg/dl) y mayor de 850 ng/ml (86 mg/dl) ($p = 0,62$).

4.6.4 NIVELES PLASMÁTICOS DE ARV Y ESTADO NUTRICIONAL.

La media del índice de masa corporal (IMC) de los pacientes, se mantuvo estable a lo largo del seguimiento, siendo la media superior a 18 Kg/m², en todo momento

(Figura 31). Al final del periodo de estudio, se objetivó un ligero ascenso de las cifras mínimas de IMC.

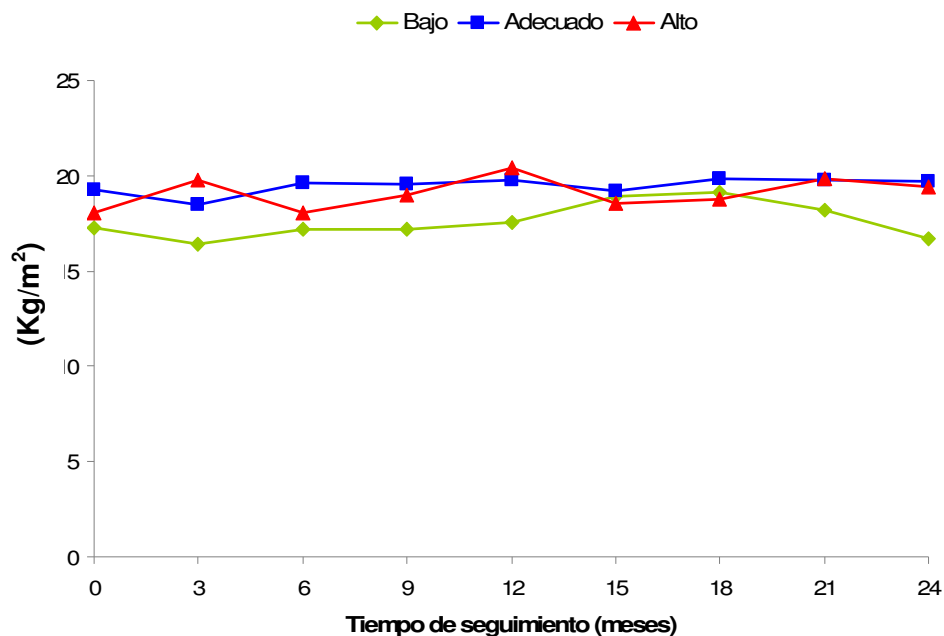
Figura 31. Resumen de la evolución del índice de masa corporal (IMC) a lo largo del seguimiento.



Al analizar la evolución del IMC en función del rango de niveles plasmáticos de ARV en cada momento, se halló que el estado nutricional tendía a ser mejor en pacientes con concentraciones plasmáticas adecuadas que en el resto y que los pacientes con concentraciones plasmáticas bajas tenían parámetros de peor estado nutricional (Figura 32).

En el momento basal, el IMC medio era de 19,3 Kg/m² en pacientes con niveles adecuados, 17,2 Kg/m² en pacientes con niveles infraterapéuticos y 18 Kg/m² en pacientes con niveles supratrapéuticos. Al final del seguimiento, el IMC medio era de 19,7 Kg/m² en pacientes con niveles adecuados, 16,7 Kg/m² en pacientes con niveles infraterapéuticos y 19,4 Kg/m² en pacientes con niveles supratrapéuticos. Las diferencias no resultaron estadísticamente significativas ni entre grupos, ni entre momento basal y final para cada grupo.

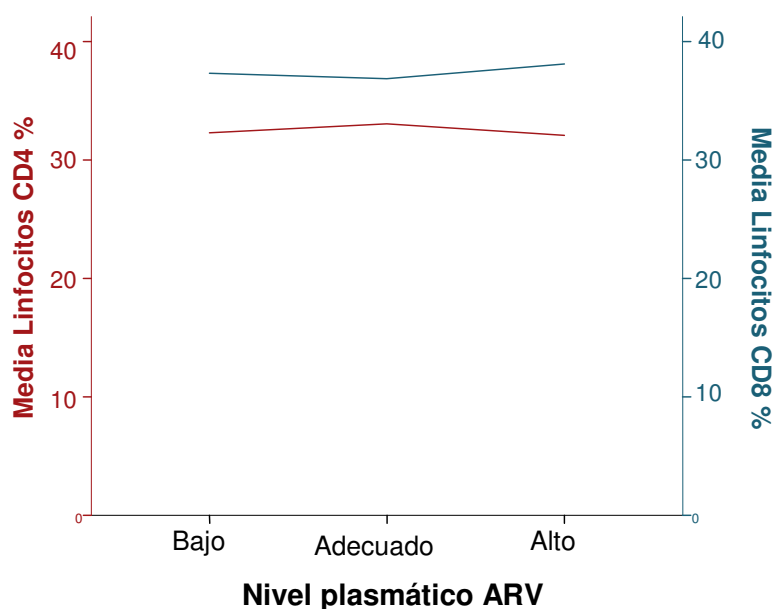
Figura 32. Resumen de la evolución del índice de masa corporal a lo largo del seguimiento, según el grupo de concentración plasmática infraterapéutica, adecuada y supratapéutica.



4.7 ANÁLISIS DE LA EVOLUCIÓN DE LOS PARÁMETROS DE ACTIVIDAD VIRAL E INMUNOLÓGICA EN EL MOMENTO BASAL Y A LO LARGO DE LOS 28 MESES DE SEGUIMIENTO.

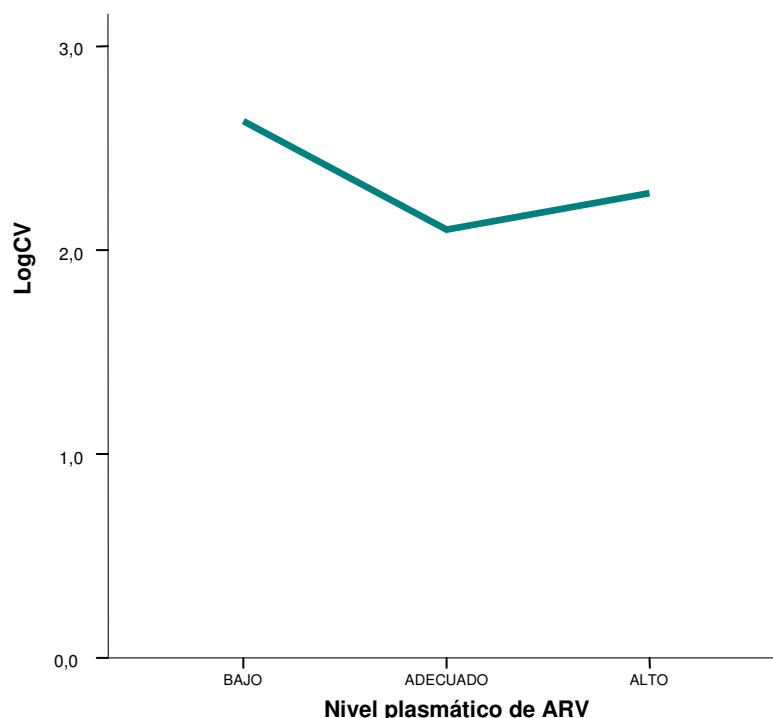
En el estudio de los datos en el momento basal, se analizó la relación entre el nivel plasmático de ARV (bajo, adecuado y algo) y el porcentaje de linfocitos T CD4+ y CD8+, mediante la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis. No se hallaron diferencias estadísticamente significativas entre los tres grupos, en lo referente al porcentaje de CD4+ ($p = 0,23$) y CD8+ ($p = 0,58$) (Figura 33).

Figura 33. Descripción de la media del porcentaje de linfocitos CD4+ y CD8+, en el momento basal del estudio, comparando los grupos de concentraciones plasmáticas infraterapéuticas, adecuadas y supraterapéuticas.



Sí se hallaron diferencias estadísticamente significativas en la carga viral (expresada como logaritmo decimal), entre los grupos de nivel plasmático bajo, adecuado y alto de ARV ($p < 0,001$). Mediante la prueba de Mann-Whitney, se encontró que las diferencias se encontraban al comparar el grupo con niveles plasmáticos bajos y los grupos de niveles adecuados y altos. De manera que, la carga viral era significativamente mayor en el grupo con concentraciones infraterapéuticas de ARV que en el resto de grupos (Figura 34).

Figura 34. Descripción del promedio de la carga viral (expresada como logaritmo decimal), en el momento basal del estudio, comparando los grupos de concentraciones plasmáticas infraterapéuticas, adecuadas y supratерapéuticas.

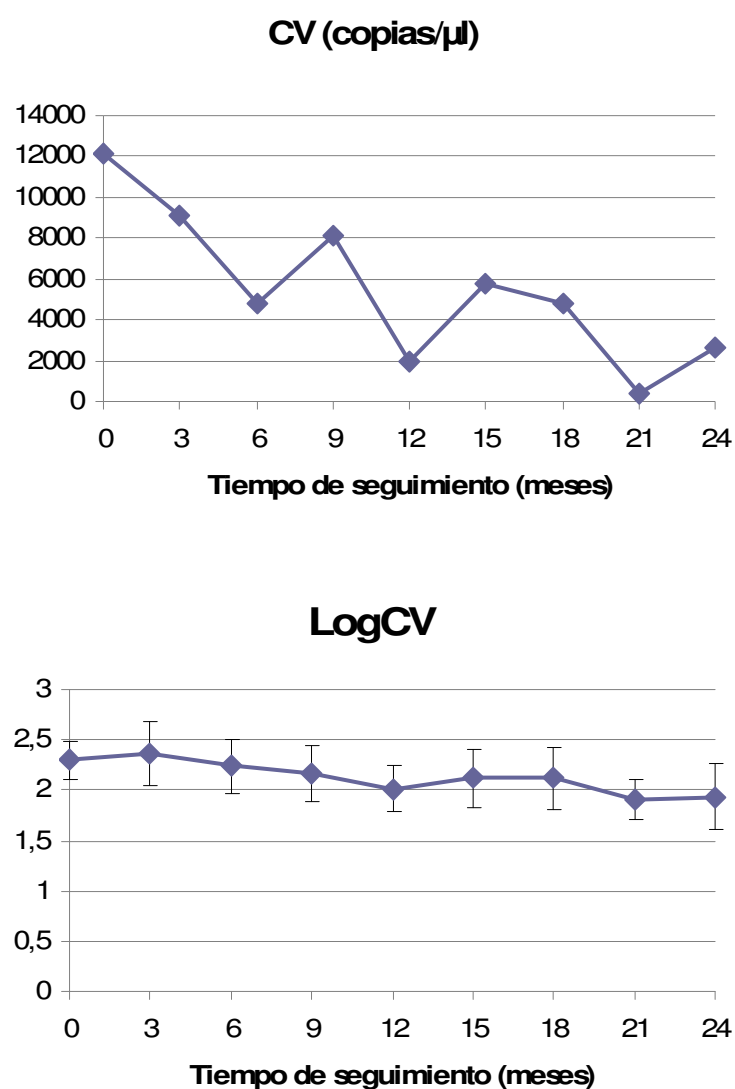


LogCV: logaritmo decimal de la carga viral; ARV: antirretroviral.

En cuanto a la evolución de los parámetros de actividad viral, en el total de los pacientes, a lo largo de los 28 meses de seguimiento, se objetivó un descenso marcado en el nivel de carga viral. De modo que, a los 24 meses de seguimiento, la media de carga viral ($\text{Log}_{10} \text{CV} = 1,93$) era significativamente menor que la media en el momento inicial ($\text{Log}_{10} \text{CV} = 2,29$) ($p < 0,001$) (Figura 35).

No se hallaron diferencias significativas en la carga viral en función del estadio clínico de los pacientes ($p = 0,20$).

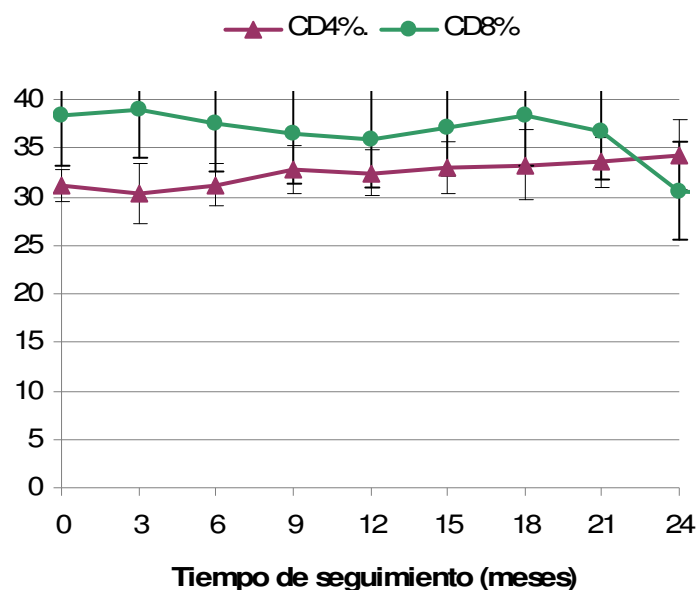
Figura 35. Evolución de los parámetros de actividad viral en los pacientes de la cohorte, a lo largo de los meses de seguimiento.



CV: carga viral. LogCV: logaritmo decimal de la carga viral.

A lo largo de los meses de seguimiento, el porcentaje de células T CD8+ descendió de forma lenta de un 38,2% en el momento basal al 30,6% al final del estudio ($p = 0,017$). El porcentaje de células T CD4+ ascendió paulatinamente, de un 31% inicial a un 34,3% final ($p = 0,12$), tal y como se detalla en la Figura 36.

Figura 36. Evolución del porcentaje de linfocitos T CD4+ y CD8+, en los pacientes de la cohorte, a lo largo de los meses de seguimiento.

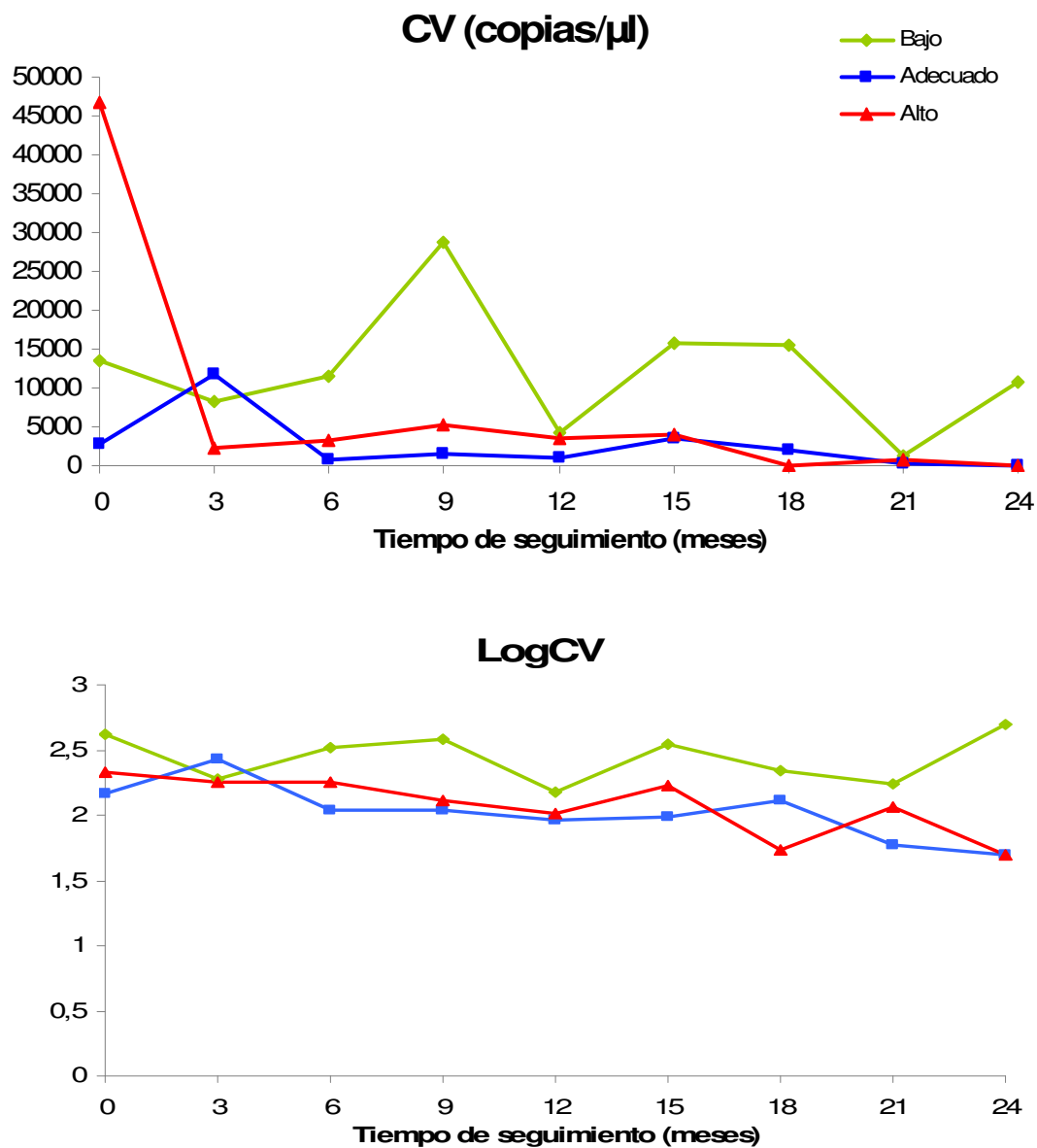


4.7.1 COMPARACIÓN DE LA DIFERENTE EVOLUCIÓN DE LOS PARÁMETROS DE ACTIVIDAD VIRAL E INMUNOLÓGICA, EN FUNCIÓN DE LA CONCENTRACIÓN PLASMÁTICA DE ARV.

Se comparó la evolución de los parámetros de actividad viral en los distintos grupos de concentraciones plasmáticas de ARV (adecuadas, bajas y altas). La carga viral se mantuvo, durante todo el seguimiento, más elevada en los niños con niveles plasmáticos bajos (Figura 37).

Las diferencias resultaron más llamativas al final del seguimiento. A los 12 meses, la media de Log_{10}CV en el grupo de niveles plasmáticos bajos era de 2,18 y, en el grupo de niveles plasmáticos adecuados de 1,96 ($p = 0,79$). A los 24 meses, la media de Log_{10}CV era de 2,69 en el grupo de niveles plasmáticos bajos y de 1,70 en el grupo de niveles plasmáticos adecuados ($p = 0,03$).

Figura 37. Evolución de los parámetros de actividad viral en los pacientes de la cohorte, a lo largo del seguimiento, comparando los grupos con concentraciones plasmáticas infraterapéuticas, adecuadas y supraterapéuticas.



CV: carga viral; LogCV: logaritmo decimal de la carga viral.

Al comparar la evolución de linfocitos T CD4+, se observó que el porcentaje y el recuento medios de linfocitos T CD4+ eran óptimos en el grupo de pacientes con concentraciones plasmáticas adecuadas, a lo largo de todo el seguimiento (Figura 38). En el grupo de pacientes con niveles bajos, el porcentaje basal de linfocitos CD4+ era de 32,3% y el final de 35,5% ($p = 0,41$) y el basal de linfocitos CD8+ era 37% frente al 27,8% final ($p = 0,2$). En los niños con niveles adecuados, el porcentaje basal de linfocitos CD4+ y CD8+ era 31,6% y 38,1% y el porcentaje final era 36% y 21%, respectivamente ($p = 0,08$ y $0,09$). En los pacientes con niveles supraterapéuticos, el porcentaje basal de linfocitos CD4+ y CD8+ era 25,1% y 42,1% y el porcentaje final era 32,3% y 31%, respectivamente ($p = 0,24$ y $0,39$). Las diferencias en el porcentaje de linfocitos T entre los distintos grupos de pacientes, a lo largo de los meses del estudio, se detallan en la Tabla 23.

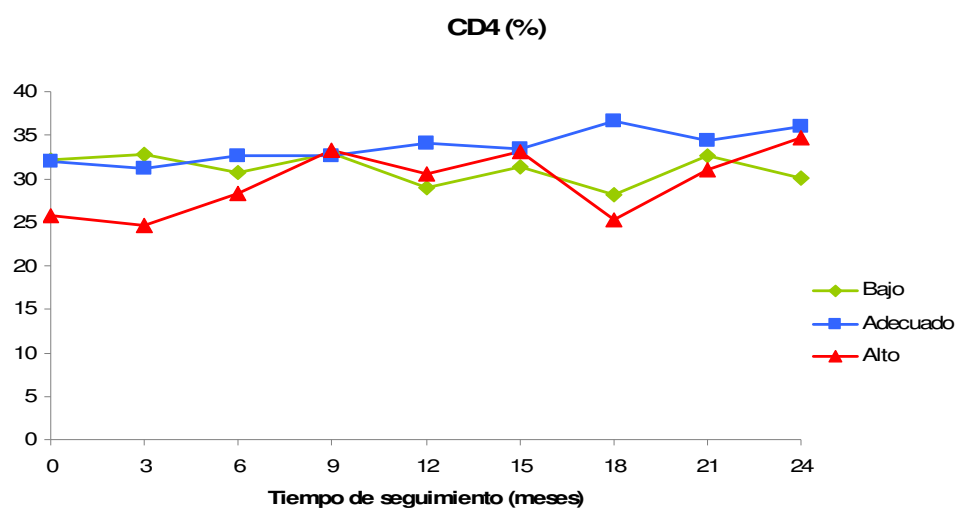
Tabla 23. Descripción de porcentaje de linfocitos T CD4+ y CD8+, a lo largo del seguimiento, en los distintos grupos de concentraciones plasmáticas.

Linfocitos T	Nivel plasmático	Mes		
		0	12	24
CD4+	Bajo	32,3%	29%	30%
	Adecuado	31,9%	34,1%	36%
	Alto	25,8%	30,5%	34,6%
CD8+	Bajo	36,4%	36,6%	31,5%
	Adecuado	38,1%	34,9%	29,1%
	Alto	41,9%	38,7%	35%

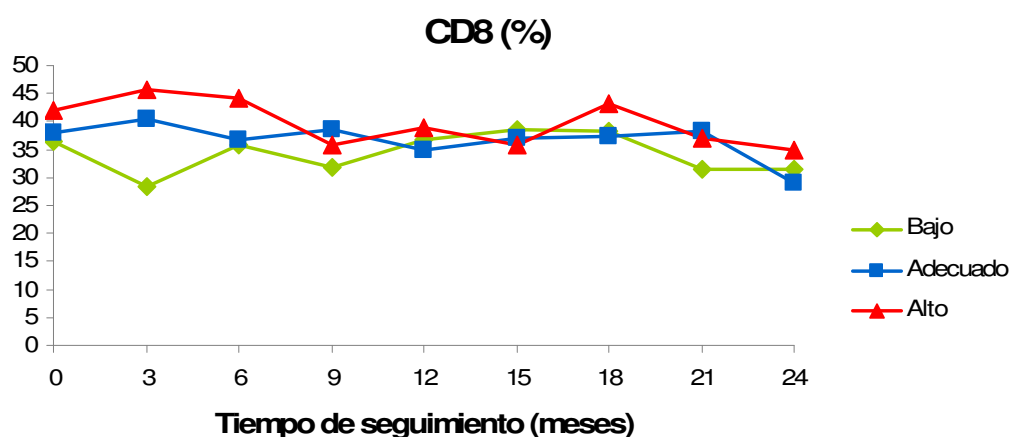
El análisis estadístico no detectó diferencias estadísticamente significativas entre los distintos grupos, en cada uno de los meses de seguimiento.

Figura 38. Evolución de los linfocitos T CD4+ (A) y CD8+ (B) a lo largo del seguimiento, comparando los grupos con concentraciones plasmáticas infraterapéuticas, adecuadas y supraterapéuticas.

(A)

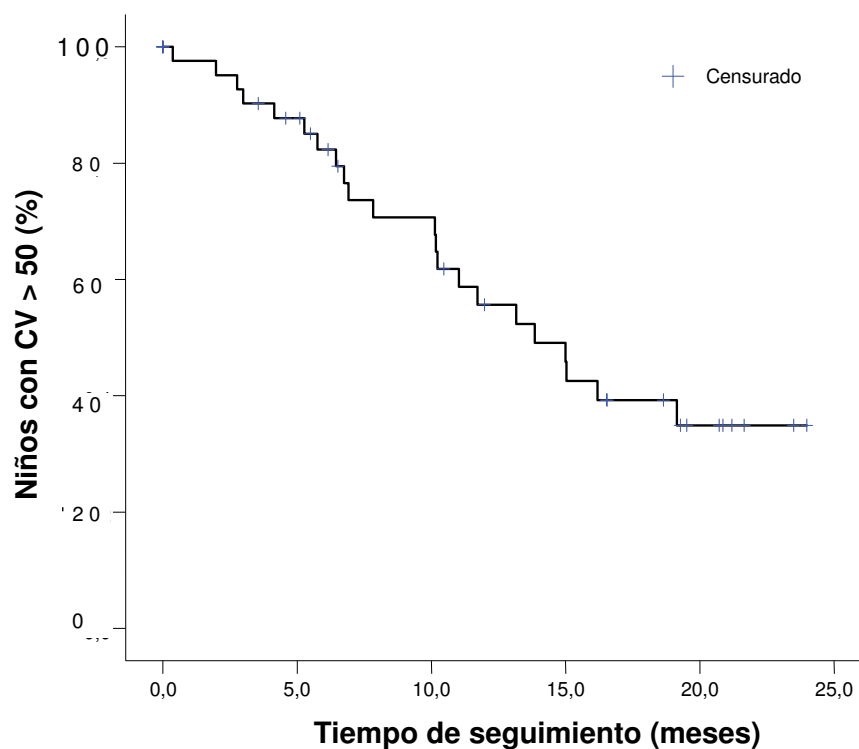


(B)



Entre los niños con carga viral elevada al inicio del seguimiento, se realizaron estudios de supervivencia en los que el evento final era alcanzar una carga viral indetectable. La mediana de tiempo en alcanzar una carga viral indetectable a lo largo del seguimiento, en estos pacientes, fue de 13,8 meses (IC: 9,5-18,1) (Figura 39).

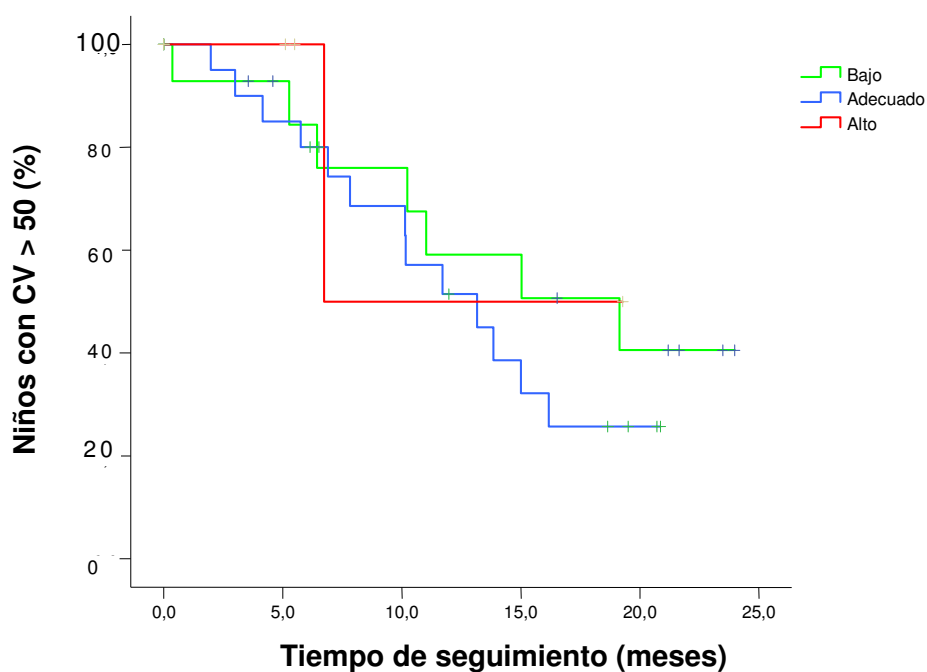
Figura 39. Curva de Kaplan-Meier para analizar el tiempo en alcanzar carga viral indetectable en la cohorte de pacientes.



CV: carga viral (expresada en copias/ml).

Los niños con niveles plasmáticos elevados consiguieron una carga viral indetectable en una mediana de 6,7 meses (IC: 0-17), frente a los 13,1 meses en el grupo de niveles adecuados (IC: 7,4-18,9) ($p = 0,57$) y los 19,1 meses en el grupo de niveles bajos (IC: 6,5-31,7) ($p = 0,78$). Las diferencias no resultaron estadísticamente significativas (Figura 40).

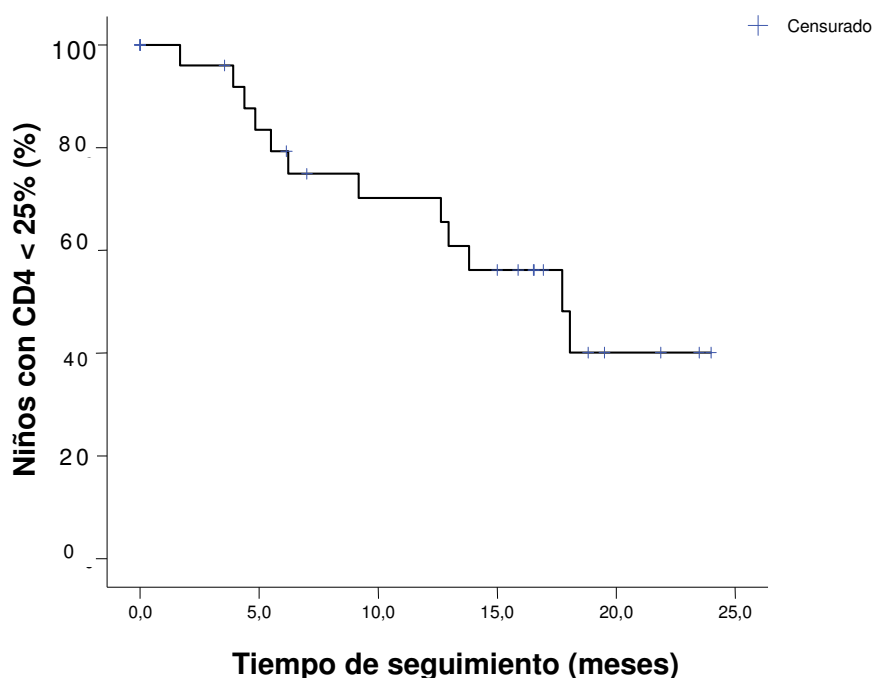
Figura 40. Curva de Kaplan-Meier para analizar el tiempo en alcanzar carga viral indetectable en la cohorte de pacientes, en función de las concentraciones plasmáticas de antirretrovirales.



CV: carga viral (expresada en copias/ml).

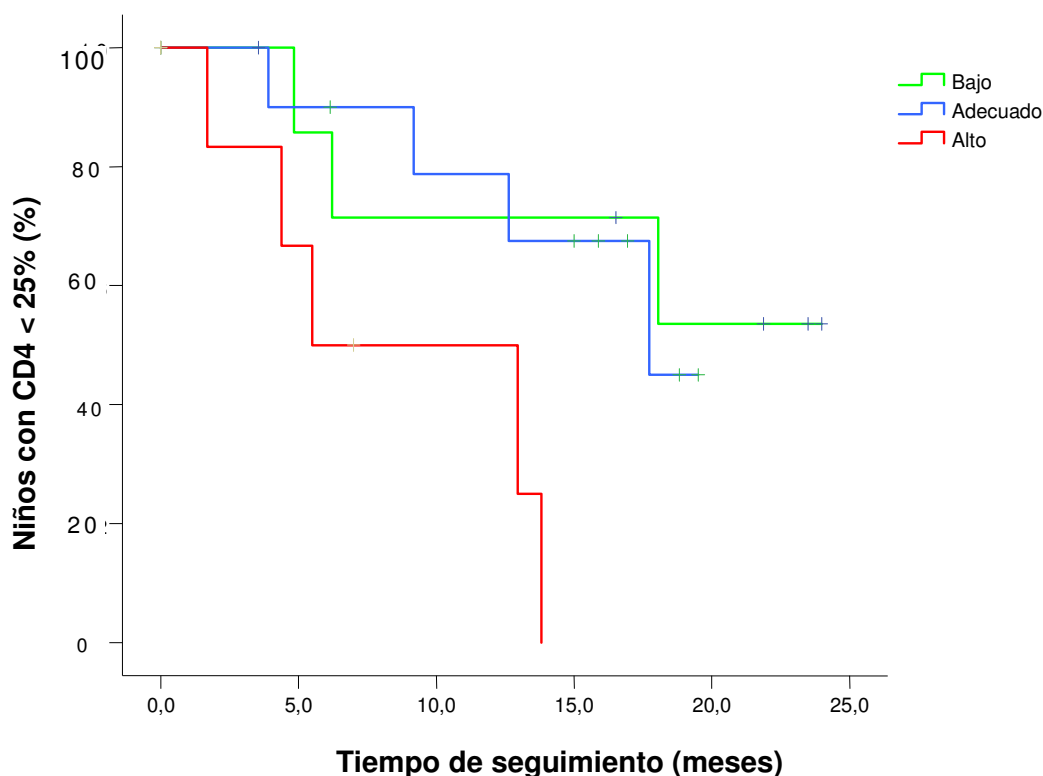
En el grupo de pacientes que tenían < 25% de linfocitos T CD4+ al comenzar el estudio (estadio inmunológico 2 o 3), se analizó en qué momento alcanzaban dicho umbral durante el seguimiento. La mediana de tiempo en el que los grupos con recuento de linfocitos T CD4+ <25% alcanzaban un porcentaje \geq 25% era de 17,7 meses (IC: 11,6-23,7) (Figura 41).

Figura 41. Curva de Kaplan-Meier para analizar el tiempo en alcanzar recuento de CD4 superior al 25%, en la cohorte de pacientes.



Al comparar este tiempo entre los grupos de concentración plasmática baja, adecuada y alta, se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos alto y bajo (p 0,035) y alto y adecuado (p 0,024). De manera que el tiempo mediano en alcanzar linfocitos T CD4+ superiores o iguales a 25% fue de 5,4 meses en niños con niveles plasmáticos altos (IC: 0-13,7) y de 17,7 meses (IC: 8,3-27) en niños con niveles adecuados. En el grupo con niveles bajos, menos de la mitad de los niños consiguieron porcentaje de CD4+ superior al 25% al finalizar el periodo de seguimiento (Figura 42).

Figura 42. Curva de Kaplan-Meier para analizar el tiempo en alcanzar recuento de CD4 superior al 25% en la cohorte de pacientes, según las concentraciones plasmáticas de antirretrovirales.

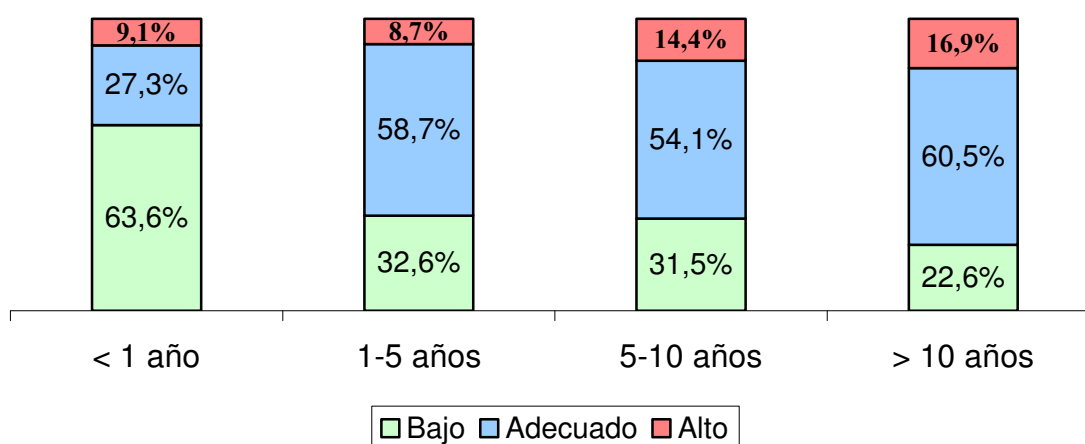


4.8 ANÁLISIS DE LA INFLUENCIA DE LA EDAD EN LAS VARIABLES ANALIZADAS EN LA COHORTE Y EN LAS CONCENTRACIONES PLASMÁTICAS DE ANTIRRETROVIRALES.

Se evaluaron las concentraciones plasmáticas de los ARV según el grupo de edad (menor de 1 año, 1-5 años, 5-10 años y mayor de 10 años). Se encontró que el grupo de pacientes menores de un año presentaba una prevalencia de niveles infraterapéuticos del 63,6%. Esta frecuencia resultó ser más del doble del porcentaje de niveles subóptimos en el resto de grupos de edad, cuyos porcentajes

se encontraban entre el 22 y el 32 % (Figura 43). Estas diferencias resultaron estadísticamente significativas ($p = 0,02$).

Figura 43. Porcentaje de concentraciones plasmáticas infraterapéuticas, adecuadas y supratерapéuticas en función del grupo de edad.

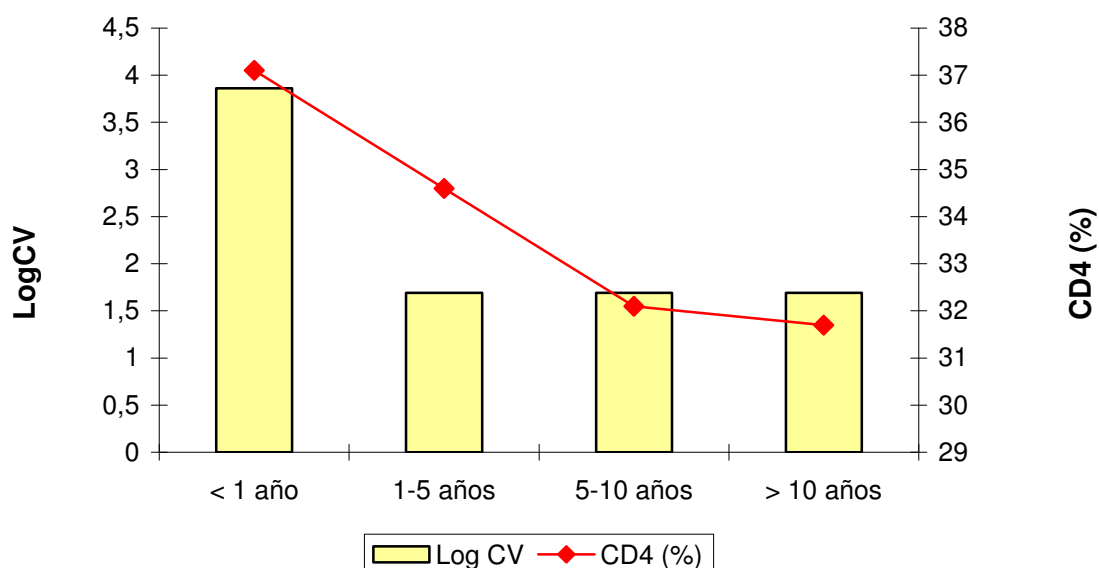


Del mismo modo, el grupo de niños menores de 1 año tenía una carga viral media ($3,45 \text{ Log}_{10}$) mayor que el resto ($2,1-2,2 \text{ Log}_{10}$) y las diferencias resultaron estadísticamente significativas con los demás grupos de edad: 1-5 años ($p = 0,008$), 5-10 años ($p = 0,003$) y más de 10 años ($p = 0,003$).

El grupo de niños menores de un año tenía un porcentaje medio de CD4 de 37,1%. Las diferencias no resultaron estadísticamente significativas con el resto de grupos de edad. El porcentaje medio de linfocitos CD4 en el grupo de 1-5 años fue de 34,6% ($p = 0,99$), en el grupo de 5-10 años de 32,1% ($p = 0,85$) y, en el grupo mayor de 10 años, de 31,8% ($p = 0,81$).

Estos hallazgos se detallan en la Figura 44.

Figura 44. Descripción de los parámetros de actividad viral (expresado como media de logaritmo decimal de la carga viral) y del porcentaje de linfocitos CD4, en función del grupo de edad.



LogCV: logaritmo decimal de la carga viral.

4.9 ANÁLISIS DE LA INFLUENCIA DEL GÉNERO Y EL DESARROLLO PUBERAL EN LAS DISTINTAS CARACTERÍSTICAS BASALES DE LA COHORTE Y EN LAS CONCENTRACIONES PLASMÁTICAS DE ANTIRRETROVIRALES.

Se analizaron las diferencias en cuanto a las características basales de los pacientes incluidos en la cohorte, en función del género.

No se hallaron diferencias estadísticamente significativas entre los pacientes varones y las mujeres, en cuanto al estadio de desarrollo puberal (p 0,78), estadio clínico (p 0,18), estadio inmunológico (p 0,41) y adherencia al tratamiento (p 0,34).

Del mismo modo, no se hallaron diferencias en la presencia de lipodistrofia, entre niños y niñas (p = 0,44) (Tabla 24).

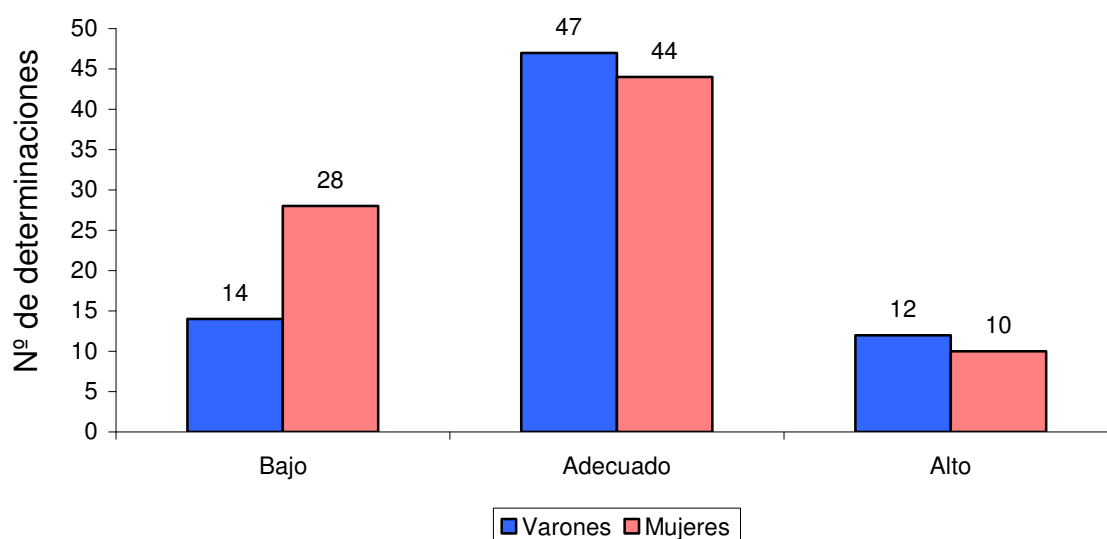
Tabla 24. Descripción del estadio puberal, estadio clínico e inmunológico, presencia de lipodistrofia y grado de adherencia al tratamiento antirretroviral, en función del género masculino o femenino.

		Niños	Niñas
Estadio Tanner	1	24	27
	2	11	9
	3	5	6
	4	3	5
	5	15	24
Estadio clínico	A	22	31
	B	15	22
	C	21	18
Estadio inmunológico	1	14	17
	2	13	23
	3	31	31
Adherencia	Buena	41	47
	Regular	14	15
	Mala	3	9
Lipodistrofia	Sí	16	24
	No	42	47
Linfocitos CD4 (%)		30 (DT: 9)	32 (DT: 9)
Linfocitos CD8 (%)		39 (DT: 13)	38 (DT: 11)
LogCV		2,31 (DT: 1)	2,31 (DT: 1)

LogCV: logaritmo decimal de la carga viral.

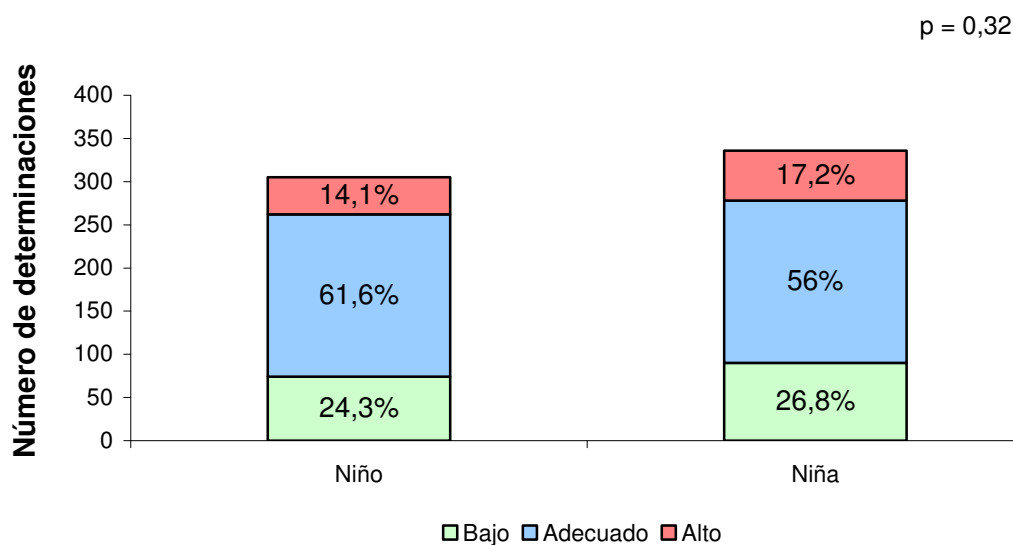
En lo referente a las concentraciones plasmáticas de ARV en el momento basal del estudio, no se hallaron diferencias significativas entre los pacientes del sexo masculino y femenino ($p = 0,1$), tal y como se detalla en la Figura 45.

Figura 45. Comparación de las concentraciones plasmáticas de antirretrovirales al inicio del estudio, según el género.



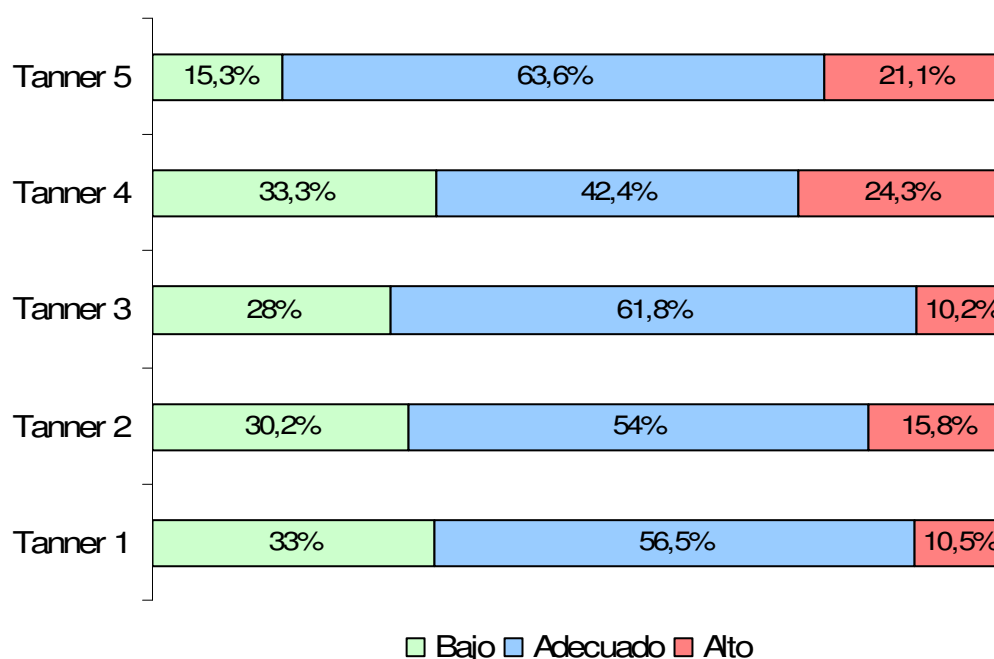
Del mismo modo, se analizaron las diferencias en las concentraciones plasmáticas de ARV, en función del género, a lo largo de los 28 meses de seguimiento y tampoco se hallaron diferencias estadísticamente significativas ($p = 0,32$) (Figura 46).

Figura 46. Comparación de las concentraciones plasmáticas de antirretrovirales determinadas a lo largo del seguimiento, según el género.



Se evaluaron las concentraciones plasmáticas de los ARV durante el seguimiento, según el estadio de desarrollo puberal y se encontró que el grupo de pacientes en estadio prepuberal (Tanner 1), presentaba una prevalencia mayor que la esperada, de niveles infraterapéuticos ($p < 0,001$) (Figura 47).

Figura 47. Comparación de las concentraciones plasmáticas de antirretrovirales determinadas a lo largo del seguimiento, según el estadio de desarrollo puberal.



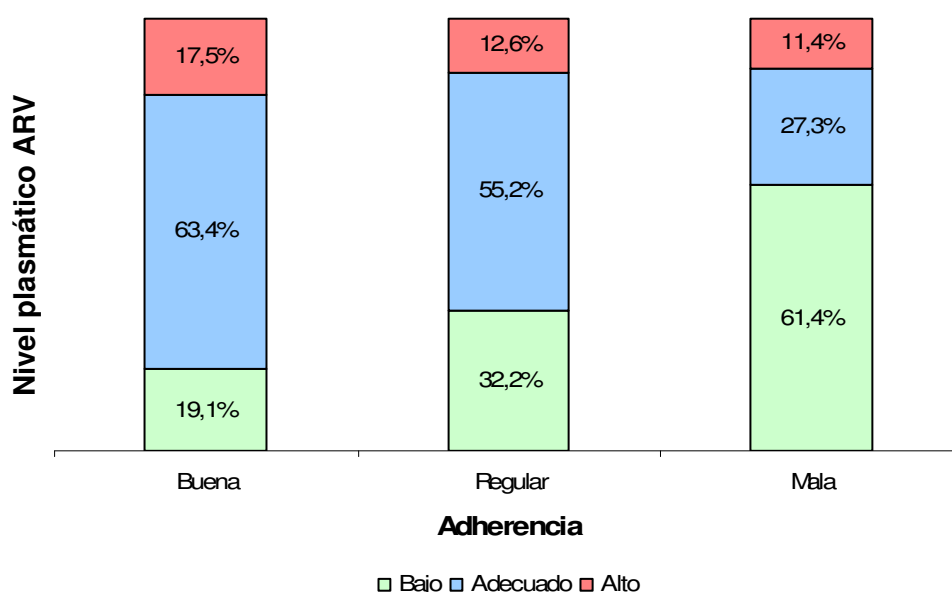
No se hallaron diferencias significativas en las medias de carga viral de los distintos estadios de Tanner. Tampoco se encontró una correlación entre el grado de desarrollo puberal y la carga viral. El coeficiente de correlación entre estadio Tanner y carga viral fue de $r_s = -0,08$ ($p = 0,056$).

4.10 ANÁLISIS DE LA INFLUENCIA DEL CUMPLIMIENTO TERAPÉUTICO Y LAS RESISTENCIAS EN LAS CONCENTRACIONES PLASMÁTICAS DE ANTIRRETROVIRALES.

4.10.1 COMPARACIÓN DE LA DIFERENTE EVOLUCIÓN DE LAS CONCENTRACIONES PLASMÁTICAS DE ARV, SEGÚN EL GRADO DE ADHERENCIA AL TRATAMIENTO.

El grupo de pacientes con mal cumplimiento terapéutico presentaba niveles infraterapéuticos con mayor frecuencia y niveles adecuados con menor frecuencia que el resto de grupos. Estas diferencias resultaron estadísticamente significativas ($p < 0,001$) y se detallan en la Figura 48.

Figura 48. Porcentaje de concentraciones plasmáticas infraterapéuticas, adecuadas y supratapéuticas en función del tipo de adherencia al tratamiento.

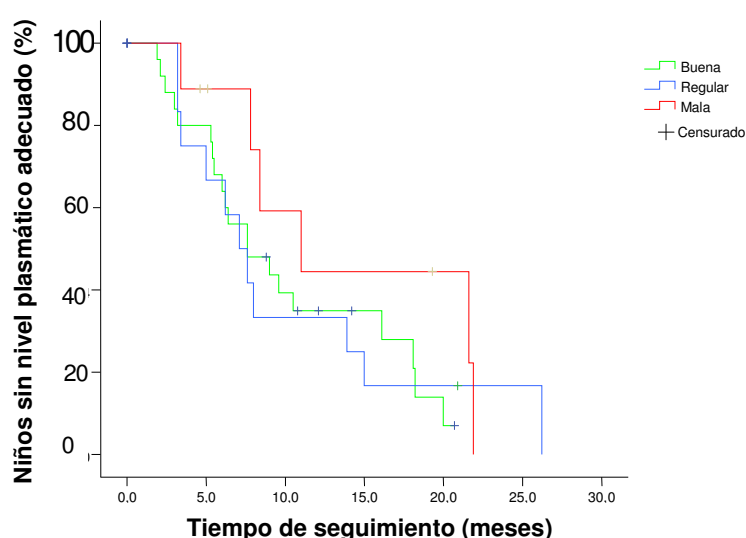


El coeficiente de correlación entre el grado de adherencia y la edad fue de $r_s = -0,163$ ($p < 0,001$). El análisis de la correlación entre el grado de adherencia y el nivel plasmático de ARV obtuvo un coeficiente $r_s = 0,2$ ($p < 0,001$) y entre el grado de adherencia y la carga viral $r_s = -0,19$ ($p < 0,001$). El grupo de pacientes con

adherencia buena al tratamiento, presentaba una media de carga viral de 2 Log₁₀ y el grupo con adherencia regular una carga viral media de 2,25 Log₁₀ ($p = 0,06$). La carga viral media en el grupo con mala adherencia era de 3,13 Log₁₀, significativamente mayor que el grupo con buen y regular cumplimiento terapéutico ($p < 0,001$ en ambas comparaciones).

Se analizó el tiempo en alcanzar niveles plasmáticos de ARV adecuados, a lo largo de los 28 meses de seguimiento, en función del grado de cumplimiento terapéutico. Este tiempo fue mayor en los pacientes con mala adherencia, tal y como se representa en la Figura 49. Las diferencias no resultaron estadísticamente significativas. Los niños con adherencia buena alcanzaban niveles adecuados en una mediana de 7,6 meses (IC: 3,4-11,7). El tiempo mediano en conseguir concentraciones terapéuticas era de 7,1 meses (IC: 4,7-9,4) en pacientes con adherencia regular ($p = 0,989$) y de 11 meses (IC: 4,5-17,4) en pacientes con mala adherencia al TARGA ($p = 0,117$).

Figura 49. Curva de Kaplan-Meier para analizar el tiempo en alcanzar recuento concentraciones de ARV en rango terapéutico, en función del grado de adherencia al tratamiento.

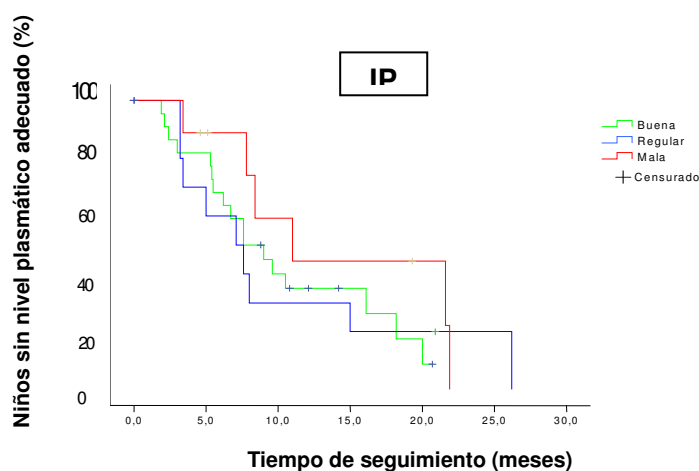


Tampoco se hallaron diferencias estadísticamente significativas entre los distintos grupos de cumplimiento terapéutico, al considerar por separado los IP y los ITNAN. En el grupo de IP, la mediana de tiempo en alcanzar niveles plasmáticos dentro del rango terapéutico fue de 7,6 meses (IC: 4,1-11) en el grupo de buena adherencia, 7,1 meses (IC: 3-11,1) en el grupo de adherencia regular y de 11 meses (IC: 4,5-17,4) en el grupo de mala adherencia. Las diferencias no resultaron estadísticamente significativas entre los grupos de buena y regular adherencia ($p = 0,93$), buena y mala adherencia ($p = 0,16$) y regular y mala adherencia ($p = 0,39$) (Figura 50-A).

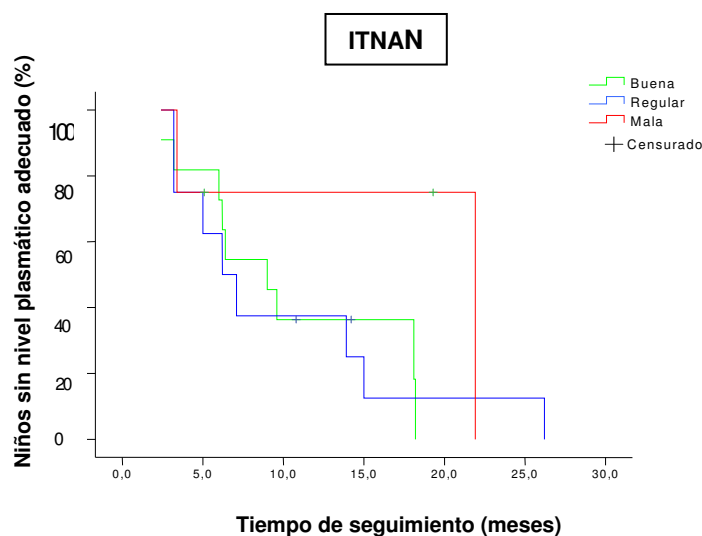
En el grupo de ITNAN, la mediana de tiempo en alcanzar niveles plasmáticos dentro del rango terapéutico fue de 9 meses (IC: 5,3-12,6) en el grupo de buena adherencia, 6,2 meses (IC: 3,2-9,1) en el grupo de adherencia regular y de 21,9 meses (IC: 6,1-28,3) en el grupo de mala adherencia. Las diferencias no resultaron estadísticamente significativas entre los grupos de buena y regular adherencia ($p = 0,83$), buena y mala adherencia ($p = 0,12$) y regular y mala adherencia ($p = 0,32$) (Figura 50-B).

Figura 50. Curva de Kaplan-Meier para analizar el tiempo en alcanzar recuento concentraciones de IP (A) e ITNAN (B) en rango terapéutico, en la cohorte de pacientes, según el grado de adherencia.

(A)



(B)



4.10.2 COMPARACIÓN DE LAS CONCENTRACIONES PLASMÁTICAS DE ANTIRRETROVIRALES, SEGÚN LA PRESENCIA DE RESISTENCIAS GENOTÍPICAS.

Se realizó estudio de resistencias a la entrada en el estudio en 75 pacientes (58,1%) con carga viral superior a 3 Log₁₀, en el momento basal. Se hallaron mutaciones asociadas con susceptibilidad viral reducida a algún ARV en 55 de ellos. El tipo de mutaciones halladas se detalla en la Tabla 25.

De estos 55 niños, el tiempo medio de tratamiento previo con ITAN fue de 73 meses, con ITNAN 57 meses y con IP, 53 meses. Once (20%) de estos pacientes presentaban mutaciones relacionadas con una susceptibilidad reducida exclusivamente a ITAN, 6 (11%) con susceptibilidad reducida a fármacos no ITAN y el resto (69%), presentaban mutaciones con susceptibilidad reducida a ITAN e ITNAN/IP.

Tabla 25. Mutaciones halladas en el gen de la transcriptasa inversa y de la proteasa entre los niños de la cohorte, en el momento basal.

Mutación TI	N	Mutación TI	N	Mutación P	N	Mutación P	N
A 62 V	2	L 210 W	10	A 71 T/V	20	L 24 I	6
A 98 G	1	L 74 V	2	D 30 N	2	L 33 F	9
D 67 N	17	M 184 V	13	E 35 G	1	L 63 A/P	21
E 44 D/G	9	M 41 L	14	F 53 L	1	L 90 M	17
F 227 L	1	T 215 F/Y	14	G 48 V	1	M 36 I/V	12
G 190 A/V	7	T 69 D	6	G 73 S	3	M 46 F/I/L	22
H 208 Y	2	V 106 M	1	I 54 L	14	N 88 D	3
H 69 K	2	V 108 I	1	I 64 V	1	Q 58 E	2
K 101 E	7	V 118 I	5	I 84 V	5	V 71 I	1
K 103 N	9	V 75 A/T	4	K 20 M/R	14	V 77 I	6
K 219 E/Q	7	Y 115 F	2	K 43 T	3	V 82 A	15
K 70 R	10	Y 181 L	2	L10 F/I/V	22		

TI: transcriptasa inversa; P: proteasa; N: número total.

La mayoría recibían una pauta de tratamiento considerando dichas resistencias. Sólo 25 (19,4%) de los 129 pacientes recibían tratamiento con algún ITNAN y/o IP frente al que presentarían resistencias.

El grupo de 25 pacientes con resistencias al ARV empleado en su pauta de tratamiento, presentaba un Log_{10} de la carga viral medio de 3 (DT: 1), frente a 2,1 (DT: 0,9) en el grupo sin resistencias ($p < 0,001$) y una media de porcentaje de linfocitos T CD4+ y CD8+ de 27,5% y 43,4% respectivamente, frente a un 32,2% y 36,7% del grupo sin resistencias ($p 0,008$ y $0,004$, respectivamente).

El porcentaje de pacientes con fallo viral (definido como carga viral superior a 3 Log_{10} en dos o más controles sucesivos) fue de 56,7% en el grupo con resistencias,

frente a 11,3% en el grupo sin resistencias ($p < 0,001$). La media de tiempo en presentar fallo viral en estos pacientes fue de 9,2 meses (DT: 4,1 meses).

Se analizó si existían diferencias en los niveles plasmáticos según la presencia o no de resistencias genotípicas, al inicio del estudio, en los 25 pacientes que recibían tratamiento con fármacos frente a los que presentaban patrón de resistencia. El porcentaje de concentraciones plasmáticas infraterapéuticas, en rango terapéutico y tóxicas, fue similar entre los diferentes grupos, tal y como se detalla en la Tabla 26.

Tabla 26. Niveles plasmáticos de ITNAN e IP en los grupos de pacientes con y sin resistencias frente al tratamiento empleado.

Resistencias		Nivel plasmático			Valor p
		Bajo	Adecuado	Alto	
EFV	Sí	2	3	2	0,63
	No	7	23	7	
LPV/r	Sí	3	13	2	0,13
	No	18	22	9	
NFV	Sí	0	2	0	0,39
	No	6	16	0	
APV	Sí	1	0	0	0,15
	No	0	0	1	
ATV	Sí	0	1	0	0,38
	No	0	1	1	

EFV: efavirenz; LPV/r: lopinavir/Ritonavir; NFV: nelfinavir; APV: amprenavir; ATV: atazanavir.

En cuanto a la relación entre el grado de cumplimiento terapéutico y la presencia de resistencias, se objetivó que el 21,3% de los pacientes con buena adherencia y el 22,7% de los niños con mala adherencia, presentaban resistencias genotípicas al tratamiento que estaban recibiendo. Este porcentaje resultó menor que el 34,5% de resistencias entre los pacientes con adherencia regular ($p = 0,003$).

Seis de los 25 pacientes requirieron control adicional de resistencias, durante el seguimiento, por carga viral superior a 3 Log₁₀ en dos o más controles

consecutivos. En cuatro de ellos, el patrón de resistencias era el mismo. En los dos restantes, había cambiado el patrón de resistencias, sus características se detallan en la Tabla 27.

Tabla 27. Características de los dos pacientes que presentaron cambio del patrón de resistencias a ITNAN y/o IP durante el seguimiento.

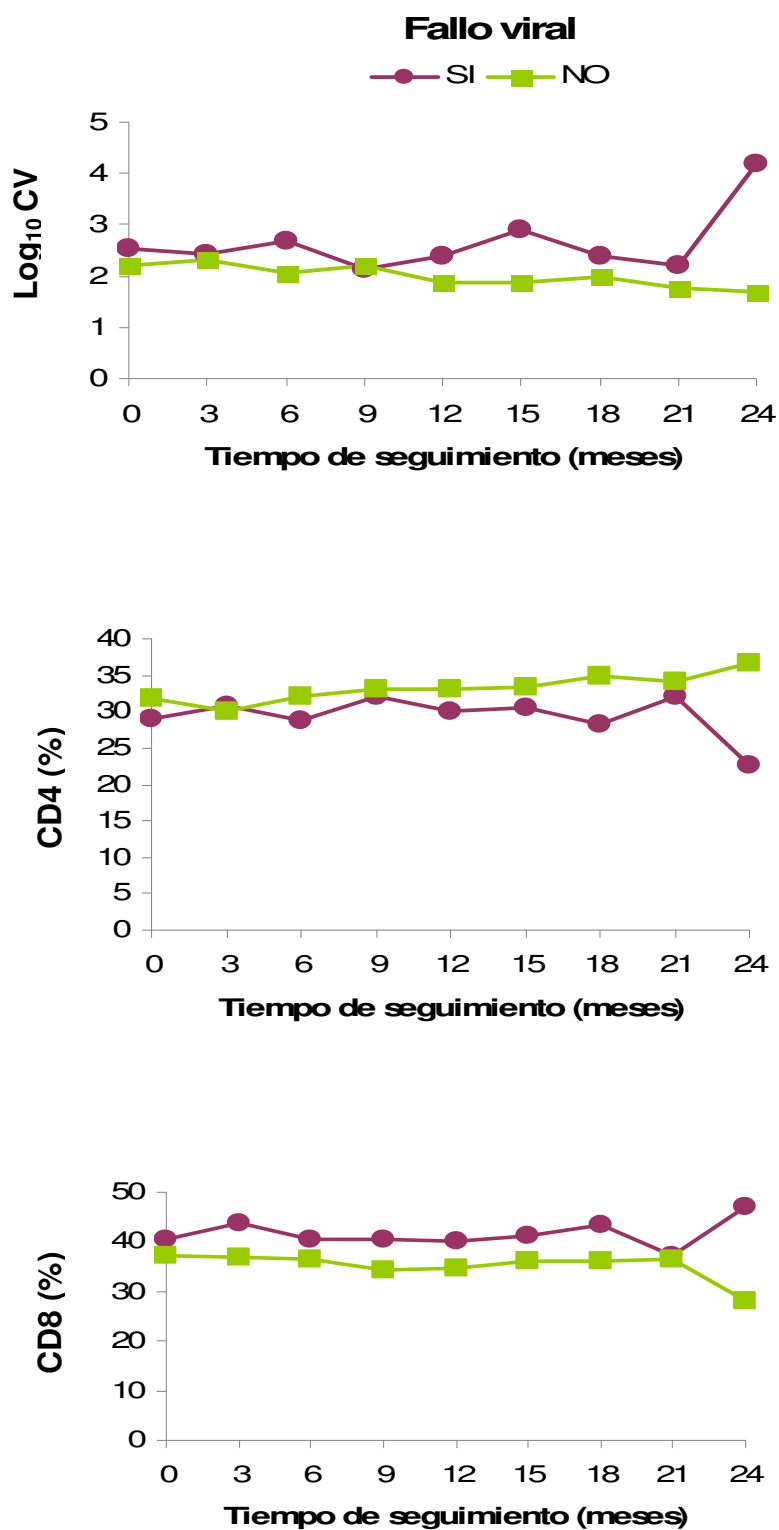
	Paciente 1	Paciente 2
Tratamiento	ddl LPV/r SQV	d4T TNF LPV/r
1º estudio de resistencias	LPV/r media SQV alta	LPV/r baja
Tiempo desde inicio del seguimiento hasta fallo viral	22 meses	2 meses
2º estudio de resistencias	LPV/r baja SQV baja	LPV/r alta
Rango de LogCV durante el seguimiento	3,2 – 4,3	3,9 – 4,6
Adherencia	Buena	Mala
Niveles plasmáticos	Adecuados	Bajos
Actitud	Asociar T-20	Mejorar adherencia

ddl: didanosina; LPV/r: lopinavir/Ritonavir; SQV: saquinavir; d4T: estavudina; TNF: tenofovir; LogCV: logaritmo decimal de la carga viral; T-20: enfuvirtide.

4.11 FACTORES PRONÓSTICOS DE FALLO VIRAL EN LA COHORTE DE NIÑOS EN LA QUE SE HAN MEDIDOS NIVELES PLASMÁTICOS DE ANTIRRETROVIRALES.

El fallo viral, definido como carga viral superior a 3 Log₁₀ en dos o más controles sucesivos, se produjo en 35 pacientes (27,1%), a lo largo del seguimiento. Estos 35 pacientes mantuvieron carga viral y porcentaje de linfocitos T CD4+ y CD8+ más desfavorables que el resto de niños, tal y como se representa en la Figura 51.

Figura 51. Evolución de Log_{10} de carga viral, porcentaje de linfocitos T CD4+ y CD8+ a lo largo de los meses de seguimiento en los grupos de pacientes con y sin fallo viral.



El porcentaje de fallo viral fue significativamente mayor entre los pacientes con niveles plasmáticos bajos (28%) que en los pacientes con niveles adecuados (17,6%) o altos (17,8%) ($p = 0,016$).

Se evaluaron los factores que podían predecir el fallo viral durante los meses del estudio.

Para identificar qué factores basales podían influir en el desarrollo de fallo viral, se realizó una regresión logística para calcular la odds ratio (OR) para alcanzar fallo viral. Se consideró el desarrollo de fallo viral como la variable dependiente. Las variables independientes fueron: edad, género, porcentaje de células CD4+, LogCV, presencia de resistencias genotípicas, grado de adherencia al tratamiento en el momento basal, estadio clínico e inmunológico al inicio del seguimiento y rango de nivel plasmático de ARV. En primer lugar se realizó un análisis univariante para identificar los factores pronósticos basales y a continuación un análisis multivariante con las variables más significativas: edad, porcentaje de células CD4+, LogCV, resistencias genotípicas, grado de adherencia y niveles plasmáticos. Los resultados obtenidos en el análisis se resumen en la Tabla 28 donde se observa cómo la presencia de resistencias genotípicas fue el factor pronóstico más importante para predecir el fallo viral. El LogCV y el porcentaje de linfocitos CD4+ en el momento basal, fueron los siguientes factores más importantes durante el seguimiento. La edad, el grado de adherencia y los niveles plasmáticos no influyeron en el desarrollo de fallo viral en la cohorte de niños estudiada.

Tabla 28. Resumen de la regresión logística empleada para identificar los factores basales pronósticos de fallo viral durante el seguimiento.

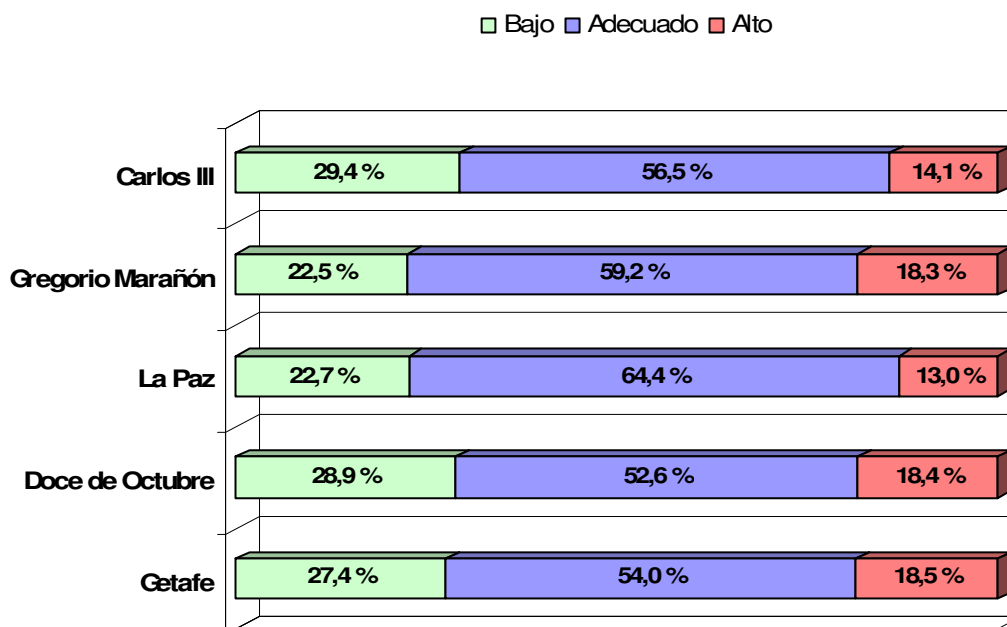
Análisis multivariante	OR (IC del 95%)	Valor p
Edad (años)	1 (0,8-1,2)	0,99
% de linfocitos T CD4+	0,8 (0,7-0,9)	0,008
LogCV	4,8 (2,0-11,2)	< 0,001
Resistencias genotípicas	9,8 (1,4-66,6)	0,019
Grado de adherencia	0,4 (0,07-2,8)	0,40
Niveles plasmáticos	0,3 (0,06-2,6)	0,33

OR: odds ratio; IC: intervalo de confianza; LogCV: logaritmo decimal de la carga viral.

4.12 VALORACIÓN DE LA UTILIDAD DE LA DETERMINACIÓN DE CONCENTRACIONES PLASMÁTICAS DE ANTIRRETROVIRALES, POR PARTE DE LOS FACULTATIVOS RESPONSABLES DE LOS PACIENTES.

Se analizó el tipo de concentraciones plasmáticas en función del Hospital de origen de los pacientes, a lo largo del seguimiento (Figura 52). Los porcentajes de concentraciones plasmáticas de ARV bajas, adecuadas y altas, fueron similares entre los pacientes de los distintos Hospitales incluidos en el estudio. Las mínimas diferencias no resultaron estadísticamente significativas ($p = 0,47$).

Figura 52. Porcentaje de concentraciones plasmáticas infraterapéuticas, adecuadas y supratерapéuticas de ARV, a lo largo del seguimiento, según el Hospital de origen de los pacientes.



Con el objetivo de evaluar el modo de interpretación de las concentraciones plasmáticas de ARV, por parte de los facultativos responsables de los pacientes, se les propuso cumplimentar un cuestionario de 9 preguntas. Las respuestas a dicho cuestionario, se detallan a continuación.

Cuestión 1. Actitud tomada en los casos con niveles plasmáticos infraterapéuticos.

La actitud común a todos los facultativos fue la de comprobar el grado de adherencia al tratamiento por parte del paciente.

En uno de los hospitales, además, se solicitaba una nueva determinación plasmática de niveles de ARV.

Si el cumplimiento terapéutico era adecuado, la actitud general era la de aumentar la dosis del fármaco.

Cuestión 2. ¿Considera que existe una relación entre niveles plasmáticos elevados y signos de toxicidad?

En 3 de los 5 hospitales participantes, los facultativos consideraban que casi nunca existe relación entre concentraciones plasmáticas elevadas de ARV y signos clínicos o analíticos de toxicidad. En los otros dos hospitales consideraban que esta relación existía ocasionalmente.

Cuestión 3. Actitud tomada en los casos con niveles plasmáticos supraterapéuticos.

En estos casos, de modo general, los facultativos investigan la posibilidad de que el paciente haya tomado la dosis del fármaco antes de la extracción sanguínea. Si no es el caso, la mayoría de ello solicita una nueva determinación de nivel plasmático. Si las concentraciones plasmáticas se mantienen en rango supraterapéutico, en 2 de los 5 hospitales se disminuye la dosis del fármaco. En los 3 hospitales restantes, sólo disminuyen la dosis si existen signos clínicos o analíticos de toxicidad.

Cuestión 4. Actitud tomada en los casos con concentraciones plasmáticas normales pero con signos de toxicidad o de fallo terapéutico.

En los casos en los que existen efectos secundarios de los ARV, con concentraciones plasmáticas dentro del rango terapéutico establecido, la actitud general era la de comprobar que los efectos adversos son atribuibles al fármaco y, si era así, cambiar el tratamiento.

Si existen criterios de fallo terapéutico con concentraciones plasmáticas óptimas, ninguno de los facultativos tendía a aumentar la dosis del fármaco, sino que solicitaba un estudio de resistencias y se cambiaba el tratamiento.

Cuestión 5. Modo de control de la adherencia del paciente al tratamiento en la práctica clínica habitual.

En todos los hospitales se realizaba un cuestionario no estructurado acerca del cumplimiento terapéutico, coincidiendo con las visitas de control, rutinarias.

Además, se complementaba dicha información con informes de farmacia sobre la retirada de medicación por parte del paciente.

Cuestión 6. ¿Considera de utilidad la determinación de niveles plasmáticos para el control del cumplimiento terapéutico?

El total de los facultativos encuestados, consideraba útil la medición de concentraciones plasmáticas de ARV para el control de la adherencia del paciente al régimen terapéutico.

Cuestión 7. ¿Considera que la determinación de niveles plasmáticos mejora el cumplimiento terapéutico?

Todos los facultativos responsables consideraban que la medición de concentraciones plasmáticas de ARV ayudaba a mejorar la adherencia al tratamiento.

Cuestión 8. ¿Considera útil la recomendación del investigador para la interpretación de los niveles plasmáticos?

El total de los facultativos que participaron en el estudio consideraba de gran utilidad la información adicional del investigador en cuanto a la interpretación de las concentraciones plasmáticas.

Cuestión 9. Valoración personal de la monitorización terapéutica de niveles plasmáticos de antirretrovirales.

El 100% de los facultativos que participaron en el estudio consideraba la medición de las concentraciones plasmáticas de ARV, una herramienta útil y beneficiosa para el manejo terapéutico y el control de la adherencia de los niños con infección VIH que reciben TARGA.

5. DISCUSIÓN

Desde que se detectó el primer caso de SIDA en 1981, la enfermedad ha causado la muerte a más de 25 millones de personas en todo el mundo, generando profundos cambios demográficos en los países más afectados. Esto la convierte en una de las pandemias más mortíferas de la historia.

El desarrollo de los métodos de prevención y del TARGA han conseguido revertir este dramático escenario, disminuyendo el número de nuevas infecciones y el número de fallecimientos por el VIH, a nivel mundial³¹⁹.

Esta disminución de la mortalidad se ha evidenciado también en la población infantil. El número total de fallecimientos por SIDA en niños alcanzó el punto máximo en 2003 y ha disminuido desde entonces hasta 330.000 en 2007. De forma simultánea, ha aumentado la supervivencia de estos pacientes y el número de niños que viven con infección por VIH continúa creciendo de manera sostenida. El número de menores de 15 años que vivían en el mundo con la infección por VIH, aumentó de 1,6 millones en 2001 a 2 millones en 2007³⁷.

La infección por el VIH se ha convertido, por tanto, en una enfermedad de curso crónico en aquellos países con acceso a la medicación. Por otro lado, la imposibilidad de erradicación del virus con los medicamentos ARV actuales supone la necesidad de tratamientos ininterrumpidos de larga duración³²⁰.

No obstante, a pesar de los avances en el tratamiento antirretroviral, la epidemia de SIDA continúa superando las medidas mundiales para contenerla y el optimismo inicial ante los resultados del TARGA se está viendo nublado en los últimos años. A pesar de sus indudables beneficios para la disminución de la mortalidad y de las infecciones oportunistas, entre el 20% y el 50% de los pacientes que inician TARGA presentan fallo del control de la replicación viral durante el primer año de tratamiento, con cualquiera de los regímenes actuales^{64, 69, 264, 321}. De modo que son necesarios cambios en las pautas terapéuticas en la mitad de los pacientes a los dos años de iniciado el tratamiento^{259, 322}. Sin embargo, la duración de la respuesta

viral tiende a disminuir progresivamente con cada nueva pauta terapéutica. De modo que la incidencia de fallo viral aumenta durante los tratamientos sucesivos hasta que el paciente se queda sin más opciones terapéuticas que las combinaciones múltiples o experimentales^{64, 69}. Estudios realizados en el Reino Unido como el de Phillips et al.³²³, indican que aproximadamente el 11% de estos pacientes fallecerá debido a un fracaso importante de las tres clases principales de medicamentos antirretrovirales.

Esta situación es especialmente preocupante en la población pediátrica en la que, habitualmente, la tasa de respuesta viral al TARGA es menor que en adultos^{58, 207}. En este grupo de pacientes, el número de años de convivencia con la enfermedad y con su tratamiento llega a ser muy prolongado^{36, 94}, por lo que es crucial optimizar las opciones de tratamiento para conseguir una supresión viral a largo plazo.

El fracaso de la terapia está relacionado con factores virales, del paciente y del tratamiento³²⁴. El principal factor viral responsable del fallo terapéutico es el desarrollo de resistencias virales, cuya prevalencia se ha incrementado con el paso del tiempo³²⁵. En lo referente a factores vinculados al paciente, la no adherencia al tratamiento es uno de los mayores problemas, especialmente en la población infantil. Desde el punto de vista del tratamiento, la toxicidad farmacológica es la principal razón para suspender la terapia y, a su vez, contribuye a disminuir el cumplimiento de la misma^{70, 139}.

Todas estas variables responsables del éxito o del fracaso terapéutico están relacionadas entre sí y, al mismo tiempo, relacionadas con las concentraciones plasmáticas de los fármacos ARV. La importancia de alcanzar una concentración terapéutica de estos fármacos en el lugar donde se produce la multiplicación del virus para obtener una adecuada respuesta viral es incuestionable. Si la concentración es la necesaria para inhibir al virus, se producirá una supresión de la

replicación viral y se evitará la selección de mutaciones de resistencia. Si la concentración es insuficiente, se producirá una presión selectiva sobre el virus que conducirá a la selección de resistencias a uno o varios fármacos empleados y al fracaso virológico. Por otro lado, si la concentración del fármaco es muy elevada, su toxicidad puede ser mayor, dificultando la adherencia al tratamiento.

De este modo, el conocimiento y optimización de las concentraciones plasmáticas de ARV permitiría maximizar la eficacia terapéutica, minimizar la resistencia viral y la toxicidad farmacológica y mejorar el cumplimiento terapéutico.

Existen estudios que evalúan la utilidad de la determinación de concentraciones plasmáticas de ARV para la optimización de la terapia antirretroviral^{69, 70, 293}. En la mayoría de estos estudios, es comúnmente aceptado que la población pediátrica con infección por el VIH es una de las aplicaciones de la monitorización de niveles plasmáticos de ARV, debido a la impredecibilidad de las concentraciones plasmáticas basadas en la dosis administrada²⁹².

Los niños con VIH constituyen una categoría extremadamente heterogénea ya que todos los procesos farmacológicos sufren cambios a medida que el niño crece¹¹⁰. El pH gástrico es mayor que en adultos y no se igualan hasta los 5 años de edad. El ritmo de vaciamiento gástrico es más lento en recién nacidos y más rápido en lactantes. La actividad metabólica de la flora microbiana intestinal no se desarrolla hasta los 4 años. La capacidad enzimática hepática es menor en el niño pequeño que en el adulto, se igualan a los 12 meses, continúa ascendiendo hasta los 4 años y, a partir de entonces, disminuye hasta la pubertad. La función glomerular y tubular están disminuidas al nacimiento y se igualan al adulto a los 7 meses, siendo máxima la función renal a los 3-5 años. La relación agua extracelular/agua corporal total, el porcentaje de grasa corporal y la concentración de proteínas plasmáticas, también varían con la edad.

Por otro lado, los datos farmacocinéticos y farmacodinámicos en población pediátrica, son limitados y los estudios existentes demuestran una alta variabilidad en la farmacocinética de IP e ITNAN en niños infectados por VIH³⁰². Ren et al.³²⁶, demostraron una alta prevalencia de niveles infraterapéuticos de efavirenz en una cohorte de 15 niños sudafricanos. Floren et al.¹¹⁰ describieron diferencias significativas en la exposición a nelfinavir entre niños menores y mayores de 25 kg, que recibían la dosis estándar basada en el peso. Capparelli et al.¹¹⁷ estudiaron la farmacocinética de nelfinavir en niños menores de dos años y demostraron que las concentraciones plasmáticas eran menores y más variables que las estudiadas en niños mayores y en adultos. Así mismo, el estudio de Rongkavilit et al.³²⁷, en una muestra de recién nacidos, demuestra que las concentraciones plasmáticas de nelfinavir disminuyen a partir de los 7 días de vida, probablemente por la maduración enzimática hepática y cambios en la absorción y el estudio de Sayito et al.³⁰³ muestra que dosis basadas en datos farmacocinéticos de niños mayores no son aplicables a niños pequeños, debido a polimorfismos en CYP2B6 y a cambios en la actividad enzimática según la edad.

A pesar de estas peculiaridades, estudios realizados en niños demuestran, al igual que en adultos, una relación de la concentración plasmática con la toxicidad y la actividad antiviral³²⁸⁻³³⁰. Recientemente, Burger et al.³³¹ han realizado un estudio del Pediatric European Network for Treatment of AIDS (PENTA 5), con 44 niños y han encontrado que los niños con concentraciones plasmáticas adecuadas de nelfinavir alcanzan una carga viral indetectable con mayor frecuencia (80%) que los que tenían niveles subterapéuticos (29%). De forma similar, el trabajo de Fletcher et al. sobre farmacocinética de indinavir en niños³³², demuestra una relación entre las concentraciones plasmáticas adecuadas del fármaco y la supresión del ARN viral. Estos datos sugieren la necesidad de conseguir concentraciones plasmáticas de ARV por encima de un umbral, para suprimir la replicación viral en niños.

Se han realizado algunos estudios sobre monitorización de niveles plasmáticos de ARV en niños, que han encontrado mejor respuesta viral en los niños monitorizados. Van Rossum et al.⁵⁸ realizaron una revisión de 23 estudios sobre medición de concentraciones plasmáticas de ARV en niños. Llegaron a la conclusión de que se obtenía una mejor respuesta viral tras el ajuste de dosis en función de los niveles plasmáticos, comparado con la pauta de dosis fijas. Fraaij et al.³⁰¹, realizaron un análisis de los estudios existentes sobre monitorización de ARV en niños y llegaron a la conclusión de que las diferencias interindividuales en los parámetros farmacocinéticos requieren monitorización, que existe una mejor evolución en los niños con pautas de tratamiento ajustadas según los niveles plasmáticos y que, por tanto, esta práctica tiene una utilidad evidente en el seguimiento de los niños con infección por VIH. Otros trabajos como el de Rakhmanina et al.³³³, ilustran la utilidad de la monitorización de niveles de estos fármacos en la población pediátrica con un caso clínico, el de una niña de 9 años con fallo del tratamiento, interacciones y toxicidad, en la que se consiguió supresión de la carga viral sin concentraciones tóxicas, con un régimen terapéutico basado en la monitorización de los niveles plasmáticos del TARGA.

Sin embargo, la gran mayoría de los estudios publicados sobre medición de niveles plasmáticos de ARV están realizados en adultos, por lo que las conclusiones extraídas de los mismos no son extrapolables a niños, en los que la infección por VIH tiene rasgos patogénicos y virales únicos que hacen necesario un análisis específico³³⁴. Además de este inconveniente, existen otras características de estos trabajos que hacen que sus resultados sean poco útiles para la práctica clínica habitual.

La mayoría de los estudios son ensayos clínicos en los que factores como el grupo de pacientes, la adherencia al tratamiento y el momento de medición de los niveles

están controlados por los investigadores. Se trata de estudios con resultados muy válidos desde el punto de vista epidemiológico, pero con una limitación importante para ser generalizados a la población general de niños con infección por VIH, debido a las condiciones restrictivas bajo las que se realizan³³⁵.

Otra gran parte de las publicaciones corresponden a estudios farmacocinéticos en los que se controla la administración de la medicación y se analizan concentraciones plasmáticas múltiples, en distintos momentos tras la toma del fármaco^{217, 280}. Por otro lado, muchos de los trabajos previos incluyen un número escaso de pacientes²⁹⁵, son estudios retrospectivos²⁹⁶ o sólo analizan la farmacocinética de un fármaco antirretroviral en concreto^{217, 222, 256, 336}.

En nuestro caso, presentamos un estudio observacional de carácter prospectivo. El problema de los estudios observacionales y de cohortes es que no existe aleatorización y no se controlan tantos factores como en los ensayos clínicos. No obstante, precisamente por estos motivos, representan más fielmente lo que sucede en la vida real. De modo que este tipo de estudios aporta datos acerca de la efectividad de una práctica clínica, complementando los datos de eficacia obtenidos en los ensayos clínicos.

En el trabajo presentado, con la colaboración de 5 hospitales españoles, se realiza un estudio observacional de cohortes en el que se analiza la medición de concentraciones plasmáticas de ARV para monitorización de la terapia antirretroviral, en la práctica clínica habitual, fuera del riguroso contexto del ensayo clínico. Además, se evalúa la influencia de variables clínicas y de la adherencia al tratamiento y la relación con efectos secundarios y con el fallo terapéutico. Todo ello en un grupo relativamente numeroso de pacientes en edad pediátrica, durante un tiempo prolongado de seguimiento y referido al total de fármacos antirretrovirales para los que está disponible la medición de concentraciones plasmáticas en nuestro

medio. Un conjunto de características que no reúne ningún estudio realizado con anterioridad en nuestro país.

La edad media de la población a estudio era de 11,2 años en el momento de entrada en el estudio, con un rango amplio de edades. Esto permite analizar no sólo las peculiaridades de la población pediátrica respecto a la adulta, sino también las particularidades de los distintos grupos de edad que constituyen el periodo infantil, así como de los distintos grupos de desarrollo puberal.

La situación clínica e inmunológica de la infección por VIH entre los pacientes del estudio era homogénea, con aproximadamente un tercio de pacientes distribuidos en cada uno de los estadios clínicos e inmunológicos. Esto también permite el análisis de la influencia de la fase de evolución de la infección en los resultados farmacológicos.

Los fármacos que constituyen las pautas de TARGA recomendadas en la edad pediátrica se desarrollaron inicialmente para adultos⁷⁰. Sin embargo, en niños, el tratamiento ARV tiene ciertas peculiaridades como son la ausencia de formulaciones pediátricas de muchos de los fármacos, la dependencia de otros para tomar la medicación, la ausencia de pautas de dosificación pediátrica basadas en ensayos clínicos y, fundamentalmente, la diferente farmacocinética y farmacodinámica de estos pacientes en los que, además, existe un sistema inmunitario no completamente desarrollado³⁰¹.

Las guías PENTA (Pediatric European Network for treatment of AIDS) recomiendan, como primera línea de tratamiento en niños, el uso de 2 ITAN junto con un ITNAN o un IP potenciado con ritonavir^{143, 337}. Esto explica que el 70% de los sujetos de nuestro estudio recibieran estas pautas de tratamiento. El resto de combinaciones corresponden a segundos o sucesivos regímenes terapéuticos, que se pautan en caso de fallo del tratamiento inicial. La introducción secuencial de los distintos ARV

en las pautas de tratamiento actuales se ve reflejada en los regímenes terapéuticos de nuestros pacientes. Los ITAN e ITNAN eran los fármacos de mayor tiempo de utilización previa (3,5 años), seguidos por los IP (2,9 años) y los IF (1,9 años). De acuerdo a las recomendaciones actuales³³⁷, abacavir y lamivudina eran los ITAN más frecuentemente utilizados. De entre los ITNAN, efavirenz es el indicado en mayores de 3 años, siendo el más utilizado también en nuestra cohorte (82% de los ITNAN) y nevirapina para menores de 3 años. Etravirine sólo lo recibían dos pacientes, ya que se trata de un fármaco de reciente introducción que todavía está en estudios en niños.

En lo que se refiere a los IP, lopinavir/ritonavir es el fármaco de este grupo más utilizado entre nuestros pacientes (65% de los IP empleados), ya que es el IP de elección para niños pequeños. Se trata del único fármaco para el que está disponible una formulación combinada con ritonavir en jarabe¹⁴³. Otra alternativa posible sería utilizar otro IP potenciado con ritonavir. No obstante, además de lopinavir/ritonavir, amprenavir, nelfinavir y ritonavir son los únicos IP aprobados para niños en España³³⁸.

En nuestra cohorte, la gran mayoría de los niños eran pre-tratados, habiendo presentado fallo viral previo y encontrándose en su segunda o sucesivas líneas de tratamiento. Los estudios existentes sobre medición de concentraciones plasmáticas de ARV se han realizado en pacientes *naïve*²⁵¹ y experimentados^{253, 254}. Sin embargo, no existen datos acerca de las diferencias farmacocinéticas entre los dos grupos de pacientes y los rangos terapéuticos de antirretrovirales se aplican indistintamente a ambos. La mayoría de autores coinciden en que la medición de niveles plasmáticos podría resultar más útil en pacientes experimentados, ya que son los que han presentado fallo terapéutico y precisan mayor optimización de las opciones terapéuticas^{254, 339-341}. Nuestros resultados no han objetivado diferencias en las concentraciones plasmáticas de ARV entre pacientes *naïve* y pre-tratados,

aunque el limitado número de pacientes *naïve* de nuestra cohorte podría limitar la detección de diferencias.

Como factor añadido a la complejidad del metabolismo de los ARV en niños, se encuentra el hecho de que la relativa estabilidad farmacocinética de estos fármacos se pierde a medida que cambian las condiciones del paciente. Un ejemplo que ilustra esta situación es el uso de fármacos concomitantes o productos no farmacológicos que interaccionen con los ARV. Se estima que el 14% de pacientes con SIDA usan más de 10 fármacos simultáneamente, por lo que las interacciones son muy frecuentes en estos pacientes³⁴².

Los mecanismos de las interacciones son múltiples e incluyen alteraciones de la absorción intestinal del fármaco, de la unión a proteínas plasmáticas, del metabolismo hepático y de la función renal. Las interacciones pueden ser farmacodinámicas o farmacocinéticas. En las interacciones farmacodinámicas, existe una alteración de la respuesta farmacológica sin modificarse las concentraciones plasmáticas del fármaco, como el efecto antagónico descrito entre zidovudina y estavudina. En las interacciones farmacocinéticas, la alteración de la respuesta farmacológica deriva de una modificación de los niveles plasmáticos debido a una interferencia con otro fármaco en la absorción, metabolismo o excreción. Esta modificación puede conllevar un aumento de los niveles plasmáticos, con el consecuente aumento potencial de la toxicidad, o una disminución de los mismos con la consiguiente pérdida de eficacia³⁴³. Éste es el mecanismo más determinante en las interacciones que afectan a los ARV, mediante la inducción o inhibición de las isoenzimas del citocromo P450³⁴⁴.

El conocimiento de estas interacciones es, por tanto, esencial para mantener la seguridad y la eficacia del tratamiento antirretroviral. En casos en los que puedan existir estas interacciones, sería de utilidad conocer el nivel del ARV antes y

después de la introducción del segundo fármaco, para evaluar la magnitud de la interacción y valorar la modificación de las dosis. Los distintos ARV también pueden interaccionar entre sí, principalmente los IP, pero esta interacción es difícil de evitar ya que es inherente a un régimen de terapia múltiple.

En el momento de diseño de nuestro estudio, se excluyó a los pacientes con alteraciones potenciales del metabolismo farmacológico, como pacientes con coinfección por virus de la hepatitis o con disfunción renal. Así mismo, se excluyeron también pacientes que recibieran tratamientos concomitantes con fármacos con interacción clara con ARV, como los antifúngicos o los tuberculostáticos³⁴⁵. De este modo, se ha pretendido evitar la influencia y el posible sesgo de estas interacciones en la interpretación de los resultados.

Como ya se ha comentado, los pacientes con infección por VIH suelen recibir medicación asociada y los niños de nuestra cohorte no son una excepción. De modo que, algunos de ellos (13%) recibían algún tipo de terapia asociada en el momento del estudio (Tabla 11). Sin embargo, la mayoría de los fármacos implicados carecían de interacciones significativas descritas o, de existir, era la presencia del ARV la que afectaba a la actividad de la otra mediación (budesonida³⁴⁴, atorvastatina³⁴⁶) y no al contrario. Cabe destacar que se han descrito modificaciones en la actividad antirretroviral, en asociación con omeprazol. El atazanavir, por ejemplo, requiere de un pH gástrico ácido para ser absorbido a nivel intestinal. El uso de fármacos que aumentan el pH gástrico, como los inhibidores de la bomba de protones, se asocia con una disminución de su absorción intestinal y con un descenso de las concentraciones plasmáticas de atazanavir hasta del 76%³⁴⁷. No obstante, sólo uno de los pacientes recibía tratamiento con omeprazol en el momento del estudio, en el contexto de una hernia de hiato sintomática. Atazanavir no formaba parte de su régimen terapéutico y los niveles plasmáticos de los ARV analizados (nelfinavir y lopinavir/ritonavir) resultaron

adecuados, a pesar de que Fang et al.³⁴⁸ han descrito casos de disminución de concentraciones plasmáticas de nelfinavir coadministrado con omeprazol. Estudios previos no han demostrado afectación de los niveles plasmáticos de lopinavir/ritonavir durante su asociación con omeprazol^{349, 350}.

Conseguir pautas de tratamiento eficaces en la infancia es un reto. Además de las interacciones, la diferente dinámica viral en estos pacientes puede complicar la supresión óptima⁵⁸. Por otro lado, la terapia antirretroviral en niños utiliza dosis fijas de medicamento, basadas en estudios realizados en adultos. Sin embargo, las peculiaridades de la población infantil en cuanto a composición corporal, excreción renal, metabolismo hepático y función intestinal, ya comentadas previamente, se asocian con diferencias potenciales en los requerimientos de dosis. En niños, por tanto, se entiende que la concentración plasmática del fármaco pueda ser mejor predictor de su efecto que la dosis.

La relación entre concentraciones plasmáticas de ARV y el aumento de linfocitos T CD4+ y el descenso de carga viral, ha sido demostrada para ITNAN e IP²⁰⁵⁻²⁰⁷. Esto no ha sucedido con los ITAN, cuyo efecto está relacionado con las concentraciones intracelulares de sus metabolitos activos, que requieren una técnica de medición demasiado compleja^{64, 69, 202}. En nuestro estudio, no se ha determinado la influencia de esta actividad intracelular en el análisis del fallo terapéutico pero estudios como el realizado por Burger et al.¹⁰⁹ acerca de la efectividad del tratamiento, revelan que la medición de concentraciones de IP e ITNAN explican la mayoría de los fracasos del TARGA.

En nuestra cohorte se ha empleado una técnica de cromatografía líquida de alta eficacia que ha permitido el análisis de 10 fármacos entre los que estaba incluido el total de IP e ITNAN aprobados para su uso en niños en nuestro país. Esto ha permitido un estudio amplio y completo del arsenal terapéutico habitual para niños

con infección por VIH. Además, se trata de un método rápido, preciso y que permite analizar múltiples fármacos con poca muestra. Por otro lado, las implicaciones de la variabilidad interlaboratorio en la interpretación de resultados no están presentes en nuestro estudio, debido al análisis centralizado de las muestras en el mismo laboratorio.

Los niveles plasmáticos presentados corresponden a la concentración plasmática valle (C_{valle}), entendida como la concentración existente en el momento previo a la siguiente dosis del fármaco. Esta determinación es la más práctica para su manejo en el contexto de la consulta habitual, resuelve los problemas técnicos implícitos a otras concentraciones (C_{min} , C_{max} , QI, ABC) y a ella están referidos los rangos terapéuticos existentes en la literatura⁶⁴.

Una de las posibles dificultades al utilizar la C_{valle} , es la variación en la hora de obtención de la muestra sanguínea. Circunstancias como que el paciente tome la medicación demasiado pronto o demasiado tarde el día anterior o retrasos en el momento de la extracción, pueden hacer que la muestra no sea representativa. Estas situaciones influyen menos en el caso de los ITNAN ya que, al tener una vida media larga, los resultados se ven menos afectados por la falta de precisión al tomar la muestra. Entre nuestros pacientes, a pesar de la dificultad de obtener las muestras en un intervalo estricto, el momento de determinación de la C_{valle} resultó muy estable, en unas 12 horas. En el caso de efavirenz y atazanavir, la obtención de muestra en el momento pre-dosis es muy complicada en la práctica habitual porque su administración es cada 24 horas y los pacientes suelen tomarlo por la noche. Por este motivo, la mayoría de estudios, al igual que el nuestro, se refieren a C_{valle} de estos fármacos como la concentración a las 12-14 horas tras la administración de la última dosis^{216, 217}.

Lo que se mide, en realidad, es la fracción total del medicamento, no la libre o parte activa. El hecho de que se hayan obtenido las muestras encontrándose los

pacientes en una situación estable, evita el problema potencial de un descenso de la fracción libre, debida a un aumento de la unión a proteínas plasmáticas como son los reactantes de fase aguda.

Quizás el principal problema de la medición de concentraciones plasmáticas de ARV sea la ausencia de rangos terapéuticos establecidos que permitan la adecuada interpretación de los resultados y, más difícil aún, que estén validados para la población infantil. Por ello, se recurre con frecuencia a los valores diana sugeridos como más apropiados en adultos.

Los rangos de referencia que se han utilizado para nuestro estudio son los únicos disponibles en la actualidad, proceden de estudios farmacocinéticos realizados en adultos y están referidos a C_{valle} ⁶⁶. A pesar de que la C_{max} se relaciona mejor con la toxicidad del fármaco, las dificultades técnicas para su medición hacen que existan pocos datos disponibles. Por este motivo, la mayoría de ARV carece de límite superior de nivel plasmático y los que existen, son orientativos. Para nuestro análisis, se ha establecido un límite superior orientativo para lopinavir/ritonavir, de acuerdo a publicaciones previas²⁷¹.

La alta variabilidad interindividual en los niveles plasmáticos entre individuos que reciben la misma dosis, ha sido descrita en diversos trabajos^{204, 217, 351} y también se ha encontrado en el que presentamos, con coeficientes de variación superiores al 75%. Precisamente esta variabilidad es uno de los criterios que justifican la utilidad de la medición plasmática de niveles de ARV.

Entre los pacientes de nuestra cohorte, el 55-60% presentaban concentraciones plasmáticas de ARV dentro de los límites establecidos, un porcentaje algo superior al encontrado en otros estudios^{352, 353}. Aries et al.³⁵⁴, por ejemplo, en un estudio sobre aplicación práctica de la MTM en adultos, en Alemania, encontraron una prevalencia de niveles subóptimos de IP superior al 50%.

La interpretación de estos porcentajes debe ser cautelosa ya que existen diversos factores que pueden afectar a las concentraciones plasmáticas de estos fármacos, el momento de toma de la dosis o las interacciones farmacológicas y dietéticas, entre otros. De modo que una sola medición aislada puede no ser representativa de la situación real. Así, una concentración elevada podría deberse a que el paciente ha tomado la dosis justo antes de la extracción sanguínea o una concentración adecuada podría indicar que el paciente ha tomado bien las dosis previas a la extracción, por el llamado “síndrome de bata blanca”³⁵⁵. Para evitar estos sesgos en la interpretación, es conveniente realizar varias determinaciones a lo largo del tiempo.

En nuestra cohorte, se realizó una media de 4,9 determinaciones por paciente, en distintos momentos del seguimiento. Este análisis evolutivo, permite minimizar los sesgos comentados.

Evolutivamente, el porcentaje de concentraciones plasmáticas dentro del rango terapéutico se mantuvo en torno al 60%. Al final del periodo de seguimiento, se objetivó una mejoría en las concentraciones plasmáticas de efavirenz y nevirapina, probablemente reflejando una mejor adherencia al tratamiento. Los pacientes eran conscientes, a lo largo del seguimiento, de que el facultativo tenía un mejor control de la toma del fármaco gracias a la determinación de los niveles plasmáticos y esto pudo aumentar el grado de implicación del paciente en su tratamiento. La mayoría de pacientes alcanzó niveles adecuados de ARV en el primer año del seguimiento. Estudios previos confirman la utilidad de la medición de niveles plasmáticos para conocer la adherencia a fármacos de vida media larga como los ITNAN y estiman que el uso de las concentraciones plasmáticas en el manejo de estos pacientes podrían aumentar la adherencia al tratamiento en un 5%⁶⁴.

En el caso de los IP, se ha observado una tendencia al descenso de niveles plasmáticos infraterapéuticos en favor de los supratrapéuticos al final del estudio,

salvo en el caso de nelfinavir. Esto también podría indicar una mejor adherencia al tratamiento al final del periodo de seguimiento ya que, en el momento actual, se recomienda la asociación de ritonavir a todos los IP, excepto nelfinavir y esta potenciación aumenta su vida media y eleva enormemente su nivel plasmático. Es, por tanto, infrecuente que las concentraciones de IP potenciados sean infraterapéuticas, excepto en casos de poca adherencia.

Por otro lado, en el análisis individualizado, se evidenció un porcentaje de niveles de atazanavir fuera del rango establecido llamativamente elevado. Atazanavir es un IP de introducción relativamente frecuente y del que se tiene poca experiencia en niños, por lo que no está indicado como primera opción terapéutica en estos pacientes. Los niños de nuestra cohorte que recibían tratamiento con este fármaco se encontraban en su 3ª o sucesivas líneas de tratamiento. Curiosamente, los 5 pacientes que recibían tratamiento con este IP eran niñas pero, como han demostrado von Hentig et al.³⁵⁶ recientemente, el género no influye en las concentraciones plasmáticas de atazanavir.

El nivel plasmático de atazanavir puede verse reducido cuando se administra con otros fármacos, como los ITAN. Por este motivo, es frecuente su administración junto con ritonavir, con el objetivo de superar estas interacciones. Sin embargo, la asociación de ambos IP se relaciona con un aumento de sus efectos secundarios, en concreto de la hiperbilirrubinemia. En nuestro caso, se objetivó una asociación entre niveles supratrapéuticos de atazanavir y aumento de las cifras de bilirrubina, lo cual coincide con los hallazgos de otros autores³⁵⁷. Esta situación es debida a la inhibición de la uridil difosfato glucuronosiltransferasa 1A1 (UGT1A1), por parte de atazanavir³⁵⁸. También se ha descrito la influencia de polimorfismos genéticos como los hallados por Rodríguez-Novoa et al.³⁵⁹. A pesar de los niveles supratrapéuticos del fármaco y de la presencia de hiperbilirrubinemia, ninguna de las niñas sufrió un cambio en el tratamiento. Probablemente, debido a que estos pacientes tienen

antecedentes de múltiples fallos terapéuticos y el aumento de bilirrubina es un efecto adverso no grave y reversible. Por tanto, es preferible tolerar cierto nivel de ictericia con adecuado control viral y evitar un nuevo cambio terapéutico en estos pacientes. En otras series publicadas, el aumento de bilirrubina tampoco supuso la retirada del fármaco en la mayoría de los pacientes^{357, 360}.

Con el fin de evitar estas complicaciones, se han realizado estudios que sugieren la posibilidad de sustituir la terapia con atazanavir/ritonavir por atazanavir sin potenciador en pacientes con adecuado control viral. Dichos trabajos han comprobado que se logran disminuir los efectos secundarios, sin comprometer la eficacia terapéutica^{294, 361}.

El objetivo primordial de todo tratamiento antirretroviral es la supresión mantenida de la actividad viral. Sin embargo, en niños con infección por VIH de transmisión vertical, la carga viral es más alta que en adultos y una elevada proporción de niños no consigue un control completo de la replicación viral³⁶. Cabe destacar que el número de pacientes con fracasos múltiples va en aumento en pediatría. Alrededor de la tercera parte de los niños que reciben TARGA en la cohorte de Madrid, por ejemplo, han fracasado previamente con, al menos, los dos primeros regímenes de TARGA^{338, 362}.

El fallo virológico suele preceder al fallo inmunológico y clínico y, en niños, suele ser el resultado de una mala adherencia al tratamiento. Estos factores, junto con el desarrollo de efectos secundarios, son el motivo de la mayoría de cambios de pauta terapéutica.

En niños, no existen resultados de ensayos clínicos que aporten evidencias acerca de cuándo cambiar de tratamiento y no está claro a partir de qué umbral de viremia plasmática indicar el cambio de régimen terapéutico. El único estudio que se está llevando a cabo con el objetivo de dar respuesta a esta cuestión es el PENPACT

1³³⁸, un estudio del grupo PENTA europeo y del grupo IMPAACT estadounidense (International Maternal Pediatric Adolescent AIDS Clinical Trials), previamente conocido como PACTG.

Antes de realizar cualquier cambio de TARGA será imprescindible una estricta evaluación de la adherencia del paciente al tratamiento, la toxicidad de la medicación, el perfil de resistencias, la posibilidad de interacciones farmacocinéticas o farmacodinámicas, los fármacos y formulaciones disponibles y la disposición del paciente y la familia al cumplimiento del nuevo tratamiento. La tendencia anterior era la de tolerar cierta elevación de la carga viral, antes del cambio de tratamiento, para evitar agotar las opciones terapéuticas. Actualmente, se prefiere el cambio precoz de pauta, para evitar el desarrollo de resistencias. Diversos estudios, incluidas las guías españolas de tratamiento, destacan también un papel importante de la determinación de los niveles plasmáticos de ARV, como ayuda antes de decidir el cambio de tratamiento^{338, 363}.

En nuestro estudio, no se encontró asociación entre concentraciones plasmáticas fuera de rango terapéutico y el cambio de TARGA. Probablemente, porque el nivel plasmático inadecuado de ARV, aunque orientativo, no es el único factor a considerar en el momento de decidir un cambio de tratamiento.

En nuestra cohorte, un tercio de los pacientes requirieron cambio el tipo de tratamiento. Al igual que en otros estudios, la causa más frecuente de cambio de pauta fue el fracaso terapéutico (32% de los casos), seguido de la falta de adherencia a un fármaco concreto (22% de los casos) (Figura 22).

La elección del nuevo tratamiento debe basarse en un cuidadoso análisis de las causas del fallo terapéutico previo y la historia previa de TARGA del paciente. Entre nuestros pacientes, la terapia de rescate elegida coincidía mayoritariamente con las pautas de cambio de tratamiento actuales^{338, 364}. Cabe destacar el uso de lopinavir/ritonavir como IP de rescate mayoritario en niños con regímenes previos a

las recomendaciones actuales de lopinavir/ritonavir como IP de elección en niños³⁶,

338 .

Como ya se ha comentado previamente, las opciones terapéuticas en niños son limitadas y, por este motivo, es fundamental conseguir una supresión viral duradera evitando consumir las opciones de tratamiento. Es imprescindible optimizar una terapia, que en la práctica clínica habitual se ha de mantener durante años y uno de los factores a controlar es la presencia de toxicidad farmacológica, que es la causa más frecuente de las interrupciones del tratamiento por parte del paciente.

Uno de los objetivos de la medición de niveles plasmáticos de ARV es ayudar a reducir los efectos secundarios, ya que la aparición de los mismos limita los beneficios obtenidos por el TARGA, afecta a la calidad de vida del paciente y contribuye a reducir la predisposición de las personas para cumplir con el esquema terapéutico indicado, con el consiguiente fallo terapéutico³⁶⁵⁻³⁶⁷.

Cerca del 50% de los pacientes tratados con ARV, desarrollan efectos secundarios clínicos y se estima que el 9% son graves³⁶⁸. En nuestra cohorte, sólo el 3,8% de los pacientes presentaron efectos secundarios suficientemente limitantes como para requerir un cambio en el tratamiento. Todos estos pacientes presentaban buena adherencia al tratamiento y una evolución inmuno-virológica favorable pero desarrollaron efectos secundarios significativos y se modificó el régimen con el objetivo de revertirlos. Al comparar la frecuencia de cambio terapéutico debido a efectos secundarios en nuestra cohorte respecto a la descrita por otros autores, nuestro porcentaje fue similar al 3,4% comunicado por Bonfanti et al.³⁶⁹ en 703 adultos tras 10 meses de seguimiento o al 6% reportado por Resino et al.³⁷⁰ en 67 niños tras 16 meses de seguimiento.

Un cuarto de los pacientes con niveles plasmáticos elevados de efavirenz presentaban efectos secundarios neurológicos. Este porcentaje está probablemente

infraestimado, ya que en nuestro estudio sólo se han reportado efectos adversos relativamente graves, probablemente si se incluyeran las alteraciones neurológicas leves el porcentaje de niveles plasmáticos altos entre pacientes con efectos secundarios sería mayor. Aún así, nuestros datos coinciden con los de otros estudios a este respecto²¹⁶.

Las alteraciones digestivas, son el efecto secundario más frecuente en pacientes tratados con nelfinavir. Sin embargo, su relación con las concentraciones plasmáticas de dicho fármaco es aún desconocida^{109, 371}. En nuestra serie, los pacientes con efectos secundarios graves por nelfinavir tenían niveles plasmáticos adecuados, probablemente porque los efectos intestinales de nelfinavir se deben a su acción local sobre la mucosa. Por otro lado, no se ha establecido umbral plasmático supratrapéutico para este fármaco, que esté relacionado con sus efectos secundarios.

En estudios sobre aplicación de la medición de niveles plasmáticos en adultos, se ha encontrado que el principal motivo para solicitar estas determinaciones en la práctica clínica habitual es la toxicidad, en el caso de los ITNAN. En el caso de los IP, el motivo para solicitar la determinación de concentraciones plasmáticas suele ser el fallo viral⁶⁹. Sin embargo, las recomendaciones actuales de administrar los IP potenciados con ritonavir suponen un aumento de los niveles de estos fármacos en plasma, con el consiguiente aumento de sus efectos secundarios. Éste es otro de los motivos por los que se considera útil la monitorización terapéutica de los IP, incluso los potenciados con ritonavir, especialmente en pacientes multitratados³³⁹.

A largo plazo, la lipodistrofia es considerada uno de los efectos secundarios más importantes que limitan la aceptación del tratamiento ARV por parte de los pacientes aunque, actualmente, esta repercusión de la lipodistrofia es menor gracias a los regímenes que evitan el uso de fármacos como estavudina³⁶. Aproximadamente, un tercio de los pacientes de nuestra cohorte presentaban algún

grado de lipodistrofia, porcentaje que concuerda con otros estudios publicados sobre prevalencia de lipodistrofia en niños con infección por VIH en tratamiento con TARGA. Arpadí et al.⁸¹ encontraron un 29% de lipodistrofia en 28 niños con infección VIH que recibían tratamiento con ARV y Jaquet et al.¹⁶⁷ reportaron un 33,3% en una cohorte de 39 niños. Sin embargo, sólo el 23% de los pacientes con lipodistrofia en nuestra cohorte incluían estavudina en su TARGA y la presencia de estavudina en el tratamiento no resultó ser un factor predictor de lipodistrofia. Este hecho tiene gran importancia a la hora de interpretar las cifras de lipodistrofia en la cohorte, ya que en los últimos años, diversos estudios también han relacionado la estavudina en la génesis de la distribución anómala de la grasa corporal, fundamentalmente en la lipoatrofia³⁷²⁻³⁷⁴. Las diferencias encontradas en los resultados de los diferentes estudios podrían deberse a factores como la falta de una definición exacta de la lipodistrofia en la infancia y la influencia de la pubertad en la distribución de la grasa corporal, entre otros.

Como ya se ha comentado, todos los IP, excepto atazanavir sin potenciar con ritonavir, pueden causar alteraciones del metabolismo lipídico^{143, 375}. Estudios como el de Ene et al.³⁷³ han descrito el uso de IP, además de estavudina, como factor de riesgo para el desarrollo de lipodistrofia. Cameron et al.³⁷⁶ encontraron asociación entre la presencia de lopinavir/ritonavir en el TARGA y los signos clínicos de lipodistrofia. Sin embargo, la asociación entre concentración plasmática y toxicidad es difícil de establecer y confirmar, en el caso de los IP^{339, 377}. Sobre todo, teniendo en cuenta que sólo existe límite plasmático tóxico establecido para atazanavir, que por sí solo no se asocia a alteración lipídica, e indinavir, que no suele utilizarse en niños.

La elección de un límite superior para la concentración plasmática tóxica del IP más utilizado en nuestra cohorte, lopinavir/ritonavir, permitió un mejor análisis de la relación entre el nivel en plasma del IP más frecuentemente utilizado y la

lipodistrofia en nuestra cohorte. Efectivamente, en nuestro estudio, se ha encontrado una asociación entre las concentraciones plasmáticas supratrapéuticas de lopinavir/ritonavir y la presencia de lipodistrofia grave. De modo que, el límite supratrapéutico de este fármaco en 10.000 ng/ml parece adecuado en nuestro estudio.

De forma paralela a la lipodistrofia, la alteración en el perfil lipídico de los pacientes en tratamiento con ARV ha sido descrita también en niños. El análisis de estas alteraciones es de gran importancia, ya que podrían tener consecuencias cardiovasculares futuras en estos pacientes. En nuestra cohorte, se ha analizado la asociación entre niveles plasmáticos de IP y cifras de colesterol y triglicéridos. Algunos estudios han hallado asociación entre niveles elevados de lopinavir/ritonavir e hiperlipemia^{378, 379}. El análisis de León et al.³⁸⁰, por ejemplo, realizado en pacientes adultos sin tratamiento concomitante con estavudina, detectó unos porcentajes de hipercolesterolemia e hipertrigliceridemia similares a los hallados en el momento final de nuestro estudio. Sin embargo, no todos los estudios realizados a este respecto han logrado establecer una asociación clara entre niveles elevados de lopinavir/ritonavir y alteraciones lipídicas^{377, 381}.

Al igual que en el estudio presentado por González et al.³⁸², la relación resultó menos evidente entre niveles elevados de IP e hipercolesterolemia que entre niveles elevados de IP e hipertrigliceridemia y ambas asociaciones resultaron débiles. Además, los pacientes con mayores cifras de colesterol y triglicéridos tenían concentraciones medias de lopinavir/ritonavir en plasma inferiores a 10.000 ng/ml, por lo que este límite no parece relacionado con las alteraciones lipídicas leves-moderadas. Desconocemos su aplicación en los casos con alteraciones lipídicas graves, ya que ningún paciente de nuestra cohorte presentaba cifras superiores a 500 mg/dl.

En nuestra cohorte de 129 pacientes tratados con TARGA, las cifras de colesterol total se mantuvieron relativamente constantes durante los meses de seguimiento. Las cifras de triglicéridos sufrieron mayores variaciones, con una tendencia global en los pacientes a mantener niveles de triglicéridos superiores a los medidos en el momento basal y se encontró una leve correlación entre niveles elevados de IP y presencia de hipertrigliceridemia e hipercolesterolemia (Figura 26). Al comparar nuestros resultados con los obtenidos en otros estudios como el de Resino et al.³⁷⁰ realizado en 67 niños, encontramos una frecuencia de hipercolesterolemia e hipertrigliceridemia inferior en nuestra población a los 12 y 24 meses de seguimiento, sobre todo, teniendo en cuenta que Resino et al. consideraron como límite superior de colesterol cifras de 250 mg/dl y de triglicéridos, 400 mg/dl.

En cuanto a la función hepática, al igual que los datos descritos por González de Requena et al.²⁴⁷, se ha encontrado una asociación moderada entre niveles elevados de nevirapina y mayores cifras de transaminasas. Sin embargo, la alteración en estos parámetros fue sutil, con cifras de transaminasas menores de 100 UI/l en el 97% de los pacientes. La ausencia de coinfección por virus de la hepatitis en nuestros pacientes, evita que estos resultados se vean sesgados por la alteración analítica propia de esta infección. De hecho, otros autores afirman que la toxicidad hepática más importante en pacientes con infección por VIH, se da en los casos de coinfección con el virus de la hepatitis C^{383, 384}.

Como ya se ha comentado anteriormente, el objetivo principal del TARGA en niños con infección por VIH es conseguir un control mantenido de la actividad viral, al mismo tiempo que se minimiza la toxicidad a corto y largo plazo, permitiendo un crecimiento y desarrollo normales. El control de la carga viral en el tiempo, previene el desarrollo de resistencias virales y permite una función inmunológica normal, con la consiguiente prevención de las infecciones oportunistas y de la progresión de la

enfermedad. La respuesta viral se asocia, por tanto, con el éxito a largo plazo del TARGA, lo cual tiene implicaciones para la salud futura de los niños con esta infección.

Es evidente que existe una mejor relación entre el efecto de un fármaco ARV y su concentración en sangre que entre el efecto y la dosis^{220, 239, 243}, sobre todo cuando se trata de población infantil, en la que las dosis son fijas y proceden de estudios en adultos. Resultados como los del estudio Viradapt²³³, evidencian que los niveles de ARV juegan un papel primordial en la eficacia del tratamiento. Para inhibir permanentemente la replicación viral se requieren concentraciones efectivas de los fármacos a lo largo de todo el intervalo terapéutico, de manera que si la C_{valle} es superior a la concentración efectiva, la inhibición del virus será correcta. Objetivo crucial si se tiene en cuenta que la carga viral plasmática es un factor pronóstico de progresión a SIDA, además de ser uno de los factores fundamentales para medir la efectividad del TARGA³⁶.

En niños pequeños, las cargas virales plasmáticas suelen ser elevadas y, sin embargo, existen pocos estudios que evalúen la dinámica de descenso de la carga viral en la infancia. En nuestra cohorte, se objetivó un rápido descenso de la carga viral en los primeros 12 meses de seguimiento, manteniéndose posteriormente la cifra de carga viral plasmática entre 1,9-2,1 Log₁₀ (Figura 35). Estos resultados son algo inferiores a los comunicados por otros autores, como Hazra et al.³⁸⁵ y Persaud et al.³⁸⁶ en niños, que alcanzaban, en su mayoría, carga viral indetectable tras 12 meses de tratamiento. Sin embargo, dichos estudios sólo incluían pacientes *naïve* mientras que nuestra cohorte se componía mayoritariamente de niños pre-tratados. Nuestro estudio, además, ha evaluado las diferencias en la dinámica viral en función de los niveles plasmáticos de ARV, encontrando una falta de control viral entre los pacientes con concentraciones infraterapéuticas que mantenían cargas virales mayores que las de los niños con niveles por encima del rango mínimo

establecido. Estas diferencias se acentúan al final del estudio, manteniendo cargas virales de 2,7 Log₁₀ a los 24 meses de seguimiento en pacientes con niveles subóptimos, en contraposición con las cargas virales indetectables en los niños con concentraciones plasmáticas adecuadas. Estos hallazgos coinciden con los de otros estudios realizados en adultos^{64, 216}. Los escasos trabajos realizados en niños a este respecto han encontrado resultados similares pero incluyendo pocos pacientes o analizando las concentraciones de un ARV aislado, como es el caso del trabajo de Fraaij et al.³⁰² en 6 niños en tratamiento con indinavir, en los que niveles bajos de dicho IP se relacionaban con fallo viral.

La propia infección por VIH puede influir en la absorción y disponibilidad de los fármacos^{212, 217}. Cabría pensar, por tanto, que un estadio avanzado de la enfermedad puede condicionar niveles infraterapéuticos de ARV como consecuencia de una disfunción gastrointestinal producida por el virus. Sin embargo, el efecto de la infección es impredecible y no se ha demostrado su influencia en la farmacocinética de los ARV²⁴⁶. En nuestros pacientes, no se han encontrado diferencias en los parámetros de actividad viral ni en los niveles plasmáticos, en función del estadio de la enfermedad.

En cuanto a la evolución inmunológica, se ha encontrado un aumento de linfocitos T CD4+ tras dos años de seguimiento. Estos datos concuerdan con un mejor control de la infección al final del seguimiento. Así mismo, el descenso progresivo del porcentaje de linfocitos CD8+ observado, sobre todo en pacientes con niveles adecuados, podría reflejar la eficacia inmunológica del TARGA en estos pacientes, a los dos años de seguimiento, como ya han señalado otros estudios³⁸⁷⁻³⁸⁹. En lo referente a la relación de esta evolución inmunológica con las concentraciones en plasma de ARV se ha detectado una tendencia a mantener mejores porcentajes de linfocitos T CD4+ y CD8+, a lo largo del seguimiento, en los pacientes con niveles adecuados de ARV. La falta de diferencias estadísticamente significativas a pesar

de la clara relación observada, podría deberse al limitado tamaño muestral de los grupos comparados.

La rapidez de control de la actividad viral se relaciona con una mejor prevención de resistencias²²⁰ y nuestros resultados revelan una normalización de la actividad inmunológica más temprana en pacientes con concentraciones plasmáticas por encima del límite inferior establecido, entre los 5 y 17 meses de seguimiento. Esta relación también se objetiva, aunque de forma no significativa, en el caso de la carga viral. De modo que, los pacientes con niveles por encima del rango mínimo terapéutico no sólo logran mejor control de la actividad viral sino que lo logran más precozmente, a los 6-12 meses de seguimiento, frente a los 19 meses en los pacientes con concentraciones infraterapéuticas.

Otra variable que se ha relacionado con el adecuado control viral, es la mejoría de los parámetros de crecimiento a lo largo del tratamiento^{390, 391}. Diversos estudios han demostrado una mejoría en el peso y talla de los niños con adecuado control de la infección por VIH. El estudio de Guillén et al.³⁹², por ejemplo, fue realizado en 212 pacientes *naïve* de la cohorte de Madrid a lo largo de 60 meses y detectó una asociación entre el adecuado control viral y la mejora en los parámetros de crecimiento, aunque se trataba de pacientes con un grado de desnutrición más avanzado que los niños de nuestra cohorte (*z score* -0,33). Además, no existen estudios similares que analicen el papel de los niveles plasmáticos de ARV.

Se nos planteaba, por tanto, la cuestión de si esta mejoría del estado nutricional se relacionaba también con el mantenimiento de niveles plasmáticos adecuados de ARV. Nuestros resultados sugieren un mejor estado nutricional en pacientes con concentraciones superiores al rango mínimo eficaz, sobre todo al final de periodo de seguimiento. Las diferencias halladas no han resultado significativas, probablemente debido a que se trataba de pacientes multitratados, sin desnutrición

grave al inicio del estudio susceptible de mejorar llamativamente a lo largo de 2 años de seguimiento.

En el estudio de Lucas et al.³⁹³ sobre factores relacionados con el fallo terapéutico del TARGA en 273 pacientes, uno de los factores asociados fue la edad menor de 40 años.

Aunque los principios virales e inmunológicos subyacentes a la terapia antirretroviral, son los mismos para todos los pacientes, los niños infectados con VIH, como ya se ha comentado, son únicos en distintos aspectos. La patogenia de la infección es diferente porque se trata de un sistema inmune inmaduro y la mayoría de niños adquiere la infección por vía perinatal. Por otro lado, la progresión es más rápida que en adultos, lo que resulta en un peor pronóstico cuando se deja sin tratar. No obstante, el inicio precoz del tratamiento puede exponer al niño a una toxicidad acumulativa, al mismo tiempo que aumenta la probabilidad de aparición de resistencias y de problemas con la adherencia a largo plazo.

Estas dificultades en la edad pediátrica demandan un manejo intensivo y ajustado al niño. El continuo proceso de desarrollo y maduración durante la infancia, afecta también a los parámetros farmacocinéticos, justificando las diferencias halladas en este ámbito, entre adultos y niños³⁹⁴. Los parámetros que intervienen en el metabolismo farmacológico son dinámicos, existiendo variaciones en la absorción intestinal, el vaciamiento gástrico, la distribución corporal, la actividad enzimática hepática y la función renal, durante el crecimiento.

Estos factores son responsables de una alta variabilidad en la biodisponibilidad de los fármacos. Se plantea, por tanto, la cuestión de si la edad influye en las concentraciones plasmáticas de ARV, de modo diferente en cada una de las etapas de la infancia.

Existen muy pocos estudios a este respecto. Mirochnick et al³⁹⁵. en un trabajo reciente, encontraron concentraciones plasmáticas bajas de nevirapina en neonatos. Sin embargo, se trataba de pacientes en tratamiento profiláctico de transmisión vertical y no se analizó, por tanto, la asociación de los niveles con el control viral.

Nuestros resultados reflejan concentraciones plasmáticas de ARV significativamente menores en lactantes, hasta dos tercios de los pacientes (Figura 43). El mayor ritmo de vaciamiento gástrico en lactantes, podría contribuir a estos hallazgos. Por otro lado, la actividad del citocromo P450, aunque disminuida en el periodo neonatal, aumenta rápidamente en el primer año de vida pudiendo superar, incluso, a la del adulto³⁹⁶. Este metabolismo farmacológico aumentado podría explicar la disminución de concentraciones plasmáticas de ARV en estos niños. Además, ciertas recomendaciones dietéticas para la mejor absorción de los fármacos, son más difíciles de cumplir en lactantes, como se ha documentado para nelfinavir^{109, 284, 301}. Un peor cumplimiento terapéutico podría influir en estos resultados, sin embargo, no se ha encontrado una asociación importante entre la edad y la adherencia al tratamiento en nuestra cohorte.

Conjuntamente, en el contexto de concentraciones plasmáticas disminuidas en este grupo etario, se ha encontrado una mayor carga viral, lo que indica un peor control de la infección (Figura 44). El descenso del porcentaje de linfocitos T CD4+ con la edad refleja, probablemente, la disminución fisiológica que sufren estas células durante el desarrollo^{397, 398}.

De forma paralela, se ha encontrado que los niños en estado prepuberal presentan mayor frecuencia de niveles plasmáticos subóptimos, sin existir asociación entre estadio puberal y carga viral. El hecho de que el volumen extracelular sea mayor en niños prepuberales podría ser responsable de los menores niveles plasmáticos a igualdad de dosis. Sin embargo, a penas existen estudios³⁹⁹ que analicen la

influencia del desarrollo puberal en las concentraciones plasmáticas de ARV y permitan interpretar estos hallazgos.

Estudios previos^{189, 356, 400-403} no han encontrado diferencias en la evolución de la infección por VIH ni en la respuesta al tratamiento, entre varones y mujeres. En nuestra cohorte, no se han hallado diferencias en las concentraciones plasmáticas de ARV en función del género.

Los factores implicados en el fallo terapéutico del TARGA están fuertemente relacionados entre sí. La combinación de fármacos debe ser eficaz para conseguir el control de la actividad viral y evitar el desarrollo de resistencias pero, al mismo tiempo, exenta de toxicidad importante que impida el adecuado cumplimiento terapéutico por parte del paciente. El objetivo primordial de la monitorización de niveles plasmáticos de ARV es contribuir a mantener dicho equilibrio. Estudios previos como el ensayo Trilège⁴⁰⁴ y el Viradapt²³³, encuentran que las resistencias no son el único factor implicado en el fallo viral. El grado de adherencia y la potencia antiviral son variables también importantes.

De todo ello, quizás el factor crucial para la efectividad del TARGA a largo plazo, sea mantener un buen cumplimiento del tratamiento. Las personas que viven con la infección por VIH, afrontan el reto de adherirse a un tratamiento largo y complejo. Se estima que una adherencia superior al 95% consigue una supresión viral en el 81% de los casos, mientras que una adherencia inferior al 70% asocia una tasa de fallo terapéutico del 75%²⁵⁹.

En el caso de los niños, asegurar el cumplimiento estricto del tratamiento puede ser especialmente difícil debido a la escasez de fórmulas pediátricas adecuadas, el desagradable sabor de ciertos medicamentos, los requerimientos dietéticos, la dificultad para realizar las tomas nocturnas o durante el horario escolar, la dependencia de un cuidador para que administre la medicación y las peculiaridades

psicosociales de la adolescencia. Numerosos trabajos encuentran que, en la edad pediátrica, es más difícil conseguir una buena adherencia al tratamiento^{261, 342, 405}.

Se han realizado ensayos clínicos con el objetivo de determinar estrategias óptimas para mejorar la adherencia^{301, 406}. Sin embargo, el principal obstáculo con el que se encuentran estos trabajos es el método de medición del cumplimiento terapéutico. No existe *gold standard* para medir la adherencia y el único modo de confirmar el cumplimiento sería la terapia observada directamente. De forma general, al igual que en nuestro estudio, se suele medir la adherencia, mediante cuestionarios^{157, 158, 251}.

El porcentaje de cumplimiento del TARGA en niños difiere mucho de unos estudios a otros, que estiman tasas de entre el 26 y el 97%, según el método empleado para la medición de la adherencia y la población de estudio^{155, 407-410}. En nuestra cohorte, cerca del 70% de los pacientes presentaban una adherencia mayor del 90%. Este porcentaje coincide con el comunicado por Van Dyke et al.¹⁵⁰ en 193 niños del PACTG 377, cuya adherencia se estimó también mediante cuestionarios.

La falta de adherencia se ha relacionado con la presencia de niveles infraterapéuticos de ARV^{154, 411}. La interpretación de niveles debe ser, por tanto, especialmente cuidadosa en niños ya que pueden tener problemas de adherencia. Niveles subóptimos pueden indicar que el paciente no toma la medicación y niveles tóxicos con mal control viral, pueden indicar que el paciente toma la medicación justo antes de la extracción sanguínea para evitar que el facultativo detecte que no ha estado cumpliendo el tratamiento. Ante concentraciones plasmáticas inadecuadas y fallo viral es necesario, por tanto, comprobar la adherencia al tratamiento, antes de cambiar de pauta terapéutica.

La monitorización de estas concentraciones, por tanto, permite detectar problemas en la adherencia, sobre todo en el caso de los IP, con menor vida media que los ITNAN^{324, 412}. Watson et al.¹⁴⁵ emplearon la monitorización terapéutica de ARV para

documentar la falta de adherencia al tratamiento y comprobaron que ésta era la principal causa de fracaso del tratamiento ARV en los niños. Esta ventaja adicional de la monitorización de niveles resulta de gran utilidad, dados los problemas comentados anteriormente, para medir el cumplimiento. De modo opuesto, un porcentaje elevado de no adherencia puede alterar la relación entre la concentración plasmática hallada y el efecto terapéutico, dificultando la interpretación de los niveles. El uso clínico de la monitorización de niveles de ARV requiere, por ello, cierto grado de adherencia. En nuestra cohorte, sólo el 9% de los pacientes fueron malos cumplidores, un porcentaje inferior al de otros estudios^{153,}

207, 413

De entre nuestros pacientes, los que tenían peor cumplimiento terapéutico presentaban niveles subóptimos más frecuentemente (Figura 48), sobre todo en el caso de los ITNAN. Probablemente, porque los ITNAN tienen mayor tendencia a producir efectos secundarios incapacitantes que los IP, dificultando el cumplimiento. Además, los niños con peor adherencia tardaban casi un año en alcanzar concentraciones plasmáticas óptimas de ARV, frente al poco más de medio año que tardaban los niños con buen cumplimiento. Paralelamente, como ya han estimado estudios previos, la falta de adherencia se asoció con mayor actividad viral. Al analizar los factores predictores de nivel plasmático adecuado de ARV al primer y segundo años de seguimiento, no se halló influencia significativa del grado de adherencia, así como tampoco de otros factores como la edad, el porcentaje de células CD4+, la carga viral o las resistencias genotípicas. No obstante, el tamaño muestral y el método subjetivo de evaluación de la adherencia podrían influir en la falta de detección de diferencias. Al evaluarse el cumplimiento terapéutico mediante cuestionario, puede ocurrir que la estimación realizada no refleje completamente la realidad, sobre todo en pacientes adolescentes.

La variabilidad en la adherencia al tratamiento modula el mantenimiento de niveles plasmáticos de ARV y, al mismo tiempo, contribuye a la selección de virus resistentes. El VIH ha mostrado una alta capacidad de adaptarse a los retos terapéuticos. Además de la falta de cumplimiento terapéutico, la presencia de concentraciones plasmáticas infraterapéuticas de ARV se considera un factor que contribuye al desarrollo de resistencias²¹⁶.

Estas resistencias son un obstáculo importante para la efectividad del TARGA. De modo que pueden existir distintos grados de inhibición de la replicación viral entre pacientes tratados con la misma pauta. En este sentido, en nuestra cohorte, el grupo de pacientes con resistencias frente al TARGA que estaban recibiendo, presentaba mayores índices de fallo viral e inmunológico, que el resto. El hecho de que el mayor porcentaje de resistencias genotípicas lo presentara el grupo de pacientes con regular adherencia al tratamiento, sugiere que en estos pacientes existe una supresión incompleta de la replicación viral con una presión selectiva sobre las cepas virales, que favorece la emergencia de mutaciones. Esto no sucedería en los grupos con buena adherencia, en los que existe una supresión completa de la replicación, ni en los grupos con mala adherencia, en el que no se ejerce presión sobre las cepas virales, al no inhibirse la replicación viral.

Diversos estudios^{64, 69, 109, 241, 261, 291} sugieren la posible utilidad de la monitorización terapéutica de niveles de ARV para mantener concentraciones supresoras durante un intervalo de dosis y evitar la aparición de resistencias. De modo que, la detección temprana de concentraciones infraterapéuticas de ARV, ayudaría a optimizar el tratamiento precozmente, para poder evitar el desarrollo de resistencias. Sobre todo en el caso de los ITNAN, que desarrollan resistencias con rapidez, ya que una única mutación puede condicionar una pérdida de su efectividad. Este escenario cobra mayor importancia en pediatría, donde existe un menor número de ARV disponibles.

Entre los pacientes de nuestra cohorte con carga viral superior a 3 Log₁₀, la prevalencia de resistencias genotípicas fue del 73%. Porcentaje similar al comunicado por Chaix et al.⁴¹⁴ que, al estudiar una cohorte de 115 niños, encontró fallo viral en 38 de los pacientes, con una frecuencia de resistencias genotípicas del 71% en los niños con fallo viral.

En nuestro trabajo, se observa que las mutaciones en el gen de la transcriptasa inversa son, en conjunto, las más prevalentes (Tabla 25). Las mutaciones que confieren resistencia a los ITAN, fueron a su vez el subgrupo más prevalente entre las mutaciones de la transcriptasa inversa halladas en el momento basal. Esto se corresponde con la mayor duración previa de los tratamientos con ITAN en el grupo de niños con resistencias, 73 meses, frente a los 57 y 53 meses que habían tomado tratamientos con ITNAN e IP, respectivamente.

En nuestros resultados, no se hallaron diferencias en la prevalencia de resistencias virales, en función de la concentración plasmática de ARV. Hecho que podría explicarse porque utilizando los mismos rangos terapéuticos para todos los pacientes, asumimos que todos los virus tienen la misma susceptibilidad. Sin embargo, niveles de ARV considerados adecuados para virus no resistentes pueden resultar subóptimos para pacientes con cepas resistentes. Además, la interpretación de las resistencias genotípicas es muy compleja y no se ha evaluado la aplicabilidad en niños de la mayoría de los métodos disponibles^{415, 416}.

Para solucionar este problema podría emplearse el cociente inhibitorio como parámetro farmacocinético que relaciona la concentración del fármaco con la susceptibilidad del virus⁶⁵⁻⁶⁷. Sin embargo, su determinación requiere una técnica no estandarizada y demasiado compleja para su utilización en la práctica clínica habitual.

Por otro lado, para valorar más fielmente la relación entre los niveles plasmáticos de ARV y la presencia de resistencias, habría que considerar la evolución de las

concentraciones mantenidas previamente a la aparición de resistencias. Sin embargo, no disponemos de dichos datos. Sólo conocemos la evolución de niveles plasmáticos previa al cambio del patrón de resistencias que presentaron dos pacientes de la cohorte, durante el seguimiento. En uno de ellos, se objetivó un aumento en el grado de resistencia, probablemente por supresión viral insuficiente debida a una mala adherencia al tratamiento, con el consiguiente descenso de niveles plasmáticos de IP. En el otro niño, a pesar de mantener niveles adecuados, una buena adherencia y un descenso del grado de resistencias, se mantuvo el fallo viral. Aunque estos datos ayudan a ilustrar situaciones comentadas anteriormente, el número de pacientes es tan escaso que imposibilita realizar análisis adicionales en estos niños.

Al analizar qué factores pronósticos influían en la presencia de fallo viral durante el seguimiento en nuestra cohorte, fue la presencia de resistencias genotípicas, seguida de la carga viral y el porcentaje de linfocitos T CD4+ en el momento basal, el factor pronóstico más importante para predecir fallo viral. De modo que, las resistencias genotípicas y la carga viral inicial elevada resultaron factores de riesgo de fallo viral, mientras que el porcentaje basal de células CD4+ resultó factor protector, con independencia de los niveles plasmáticos de ARV y del grado de adherencia al tratamiento. La relevancia de las concentraciones plasmáticas de ARV no ha podido ser demostrada en el análisis multivariante.

El TARGA se está haciendo cada vez más complejo, con numerosas pautas propuestas, toxicidades asociadas e interacciones múltiples, que complican el manejo del paciente. Todavía existe un alto número de pacientes con fallo terapéutico y la duración de los fármacos ARV parece ser limitada. Para conseguir la supresión viral en el mayor número de pacientes, la terapia debería causar la mínima toxicidad posible y el cumplimiento terapéutico debería ser más sencillo.

Esta necesidad urgente de ser más exigentes con el rendimiento terapéutico y de preservar las opciones terapéuticas de las que disponemos, apoyan el uso de la monitorización terapéutica de la terapia antirretroviral. Éste es un tema de interés creciente, llegando algunos trabajos a sugerir que podría formar parte del manejo rutinario de la infección por VIH^{66, 69, 143, 174, 207}. Sin embargo, todavía se está desarrollando, no existen guías específicas sobre su uso y es necesaria más investigación que evalúe su utilidad práctica. Esto adquiere especial interés en la población pediátrica, en la que la alta variabilidad farmacocinética complica la efectividad del tratamiento basado en dosis fijas.

De nuestros resultados, se deduce que es necesario considerar múltiples factores para poder interpretar correctamente los resultados analíticos. La medición de los niveles plasmáticos es una parte de la monitorización terapéutica. Sin embargo, además de la concentración plasmática del fármaco, se debe valorar el cumplimiento terapéutico, las interacciones y las resistencias.

La interpretación y manejo de esta herramienta terapéutica ha sido similar entre los distintos hospitales participantes. Los facultativos responsables no modificaron el régimen terapéutico basándose exclusivamente en los resultados analíticos, sino que tuvieron en consideración múltiples variables relacionadas con la eficacia del tratamiento. La medición de concentraciones plasmáticas, por tanto, no debe convertirse en una estrategia para tratar el nivel plasmático sino para tratar al paciente.

Nuestro estudio no ha pretendido evaluar las consecuencias de las modificaciones terapéuticas en función de los niveles terapéuticos. No existen recomendaciones estandarizadas acerca de la correcta interpretación de niveles y la actitud tomada por los facultativos ante los distintos resultados analíticos ha sido distinta e individualizada en cada paciente y no basada en guías establecidas. No obstante, esta limitación forma parte de la medición de niveles en la práctica clínica y aporta a

nuestro estudio el valor adicional de evaluar esta herramienta en su aplicación práctica, superando los problemas del estricto campo teórico o experimental.

El total de médicos implicados, consideraba de gran utilidad la interpretación de los resultados analíticos dada por el investigador. Es evidente que, dadas las limitaciones de esta herramienta, la aproximación multidisciplinar resulta fundamental.

El cuestionario completado por los facultativos de los hospitales participantes en nuestro estudio, permite evaluar otros aspectos de la utilidad de la medición de concentraciones plasmáticas en la práctica clínica habitual. Para los clínicos responsables de estos pacientes, la medición de niveles de ARV ayuda a esclarecer las causas del fallo del tratamiento. La presencia de niveles no adecuados no se ha interpretado de modo aislado y se ha investigado la falta de adherencia antes de tomar ninguna decisión. Por otro lado, incluso aunque el médico no modifique las dosis, los facultativos consideran que el simple hecho de que el resultado se discuta con el paciente puede mejorar el cumplimiento terapéutico.

Ante concentraciones plasmáticas supratrapéuticas mantenidas con adherencia adecuada, la actitud solía ser la de simplificar la pauta de tratamiento disminuyendo alguna dosis, con el objetivo de mejorar la adherencia. Otra actitud posible era la de mantener la misma pauta si no existían signos de toxicidad, para evitar fallos en el control de la infección.

La sospecha de toxicidad, los problemas con la adherencia al tratamiento y el fallo terapéutico a pesar del aparente buen cumplimiento son, por tanto, situaciones en las que la medición de niveles plasmáticos de ARV ha resultado de utilidad en el manejo de estos niños.

Aunque la utilidad potencial de la monitorización de niveles de ARV es intuitiva, es necesario justificar su aplicación en la práctica clínica habitual. El PENTA 14

(ADAPT)¹⁴³, es uno de los proyectos que ha pretendido evaluar la utilidad de la dosificación del TARGA en función de los niveles plasmáticos de ARV, pero no se ha llevado a cabo por falta de participación.

Para superar las actuales limitaciones de la implantación rutinaria de la medición de niveles en los pacientes con infección por VIH, son necesarios estudios como el nuestro que evalúen la incorporación de esta técnica en la práctica clínica. Nuestro estudio de seguimiento aporta datos sobre la interpretación de las concentraciones plasmáticas de ARV en niños y sobre su utilidad como herramienta para el manejo práctico de estos pacientes. Hasta donde sabemos, se trata del primer estudio de estas características realizado en nuestro país.

Ya ha nacido la segunda generación de niños que no conocen un mundo sin SIDA y todavía es necesario mejorar la terapia antirretroviral. Tras casi tres décadas de evolución, el VIH ha logrado adaptarse a los sucesivos avances terapéuticos. Proyectos como el nuestro siguen siendo necesarios para optimizar el manejo de los niños con esta infección. Las opciones terapéuticas son limitadas y es fundamental prolongar su efectividad en una población que va a convivir cada vez más años con esta enfermedad.

6. CONCLUSIONES

Con los datos presentados en este estudio, las conclusiones a las que se ha llegado son las siguientes:

1. Las concentraciones plasmáticas de antirretrovirales en niños con infección VIH, se encuentran frecuentemente fuera del margen terapéutico establecido, tanto en rango infraterapéutico como en rango supraterapéutico.
2. Existe una alta variabilidad interindividual en las concentraciones plasmáticas de antirretrovirales en niños con infección por VIH, tratados con TARGA.
3. La mayoría de los niños con infección VIH que reciben TARGA con atazanavir potenciado con ritonavir, presentan niveles plasmáticos de atazanavir muy por encima del límite superior establecido.
4. La presencia de niveles tóxicos de atazanavir se asocia con un aumento de las cifras de bilirrubina. Esta hiperbilirrubinemia es leve y no requiere retirada del fármaco del régimen terapéutico.
5. El fracaso terapéutico, seguido de la falta de adherencia son los motivos más frecuentes de cambio de pauta terapéutica, en niños con infección VIH que reciben TARGA. Los efectos secundarios del TARGA no suelen requerir una modificación en el régimen terapéutico.
6. Las concentraciones plasmáticas de efavirenz por encima del límite superior establecido, no se asocian con la presencia de efectos secundarios graves de tipo neurológico.
7. La presencia de efectos adversos gastrointestinales en niños que reciben TARGA con nelfinavir, no se asocia con niveles plasmáticos en rango supraterapéutico de dicho fármaco.
8. Concentraciones de lopinavir/ritonavir en plasma superiores a 10.000 ng/ml en niños, se asocian con la presencia de lipodistrofia grave. No obstante,

niveles plasmáticos elevados de dicho IP no se asocian con alteraciones en el perfil lipídico.

9. La presencia de nevirapina en el TARGA se asocia con un aumento en las cifras de GGT en sangre. Además, entre los pacientes que reciben tratamiento con dicho fármaco, a mayor concentración plasmática de nevirapina, mayores cifras de GOT.
10. Los niños con concentraciones plasmáticas de antirretrovirales por debajo del rango establecido presentan mayor actividad viral y peor control evolutivo de la infección.
11. Existe una tendencia a presentar mejores cifras de linfocitos T CD4+ entre pacientes con niveles adecuados de antirretrovirales en plasma. Además, el control viral y la normalización de las cifras de CD4+ son más precoces en estos pacientes.
12. Los niños con niveles plasmáticos de antirretrovirales dentro del rango establecido, tienden a presentar mejor estado nutricional durante el seguimiento.
13. En niños con infección VIH, la edad inferior a 12 meses y el estadio prepuberal del desarrollo se relacionan con una mayor frecuencia de concentraciones plasmáticas infraterapéuticas, así como con mayores cifras de carga viral.
14. La falta de cumplimiento terapéutico se asocia con menores concentraciones de fármacos en sangre y con mayores cargas virales. Además, los niños con mala adherencia al tratamiento tardan más tiempo en conseguir niveles plasmáticos adecuados de antirretrovirales.
15. La presencia de mutaciones en los test de resistencias genotípicas compromete la respuesta viral e inmunológica. Estas mutaciones son más frecuentes en pacientes con adherencia intermedia al tratamiento.

16. Las concentraciones plasmáticas de antirretrovirales fuera del rango terapéutico no se relacionan con una mayor frecuencia de mutaciones asociadas a resistencia.
17. Las resistencias genotípicas son el factor pronóstico más importante para predecir el fallo viral en niños con infección por VIH. Además, la carga viral y el porcentaje de linfocitos CD4+ basales, son factores importantes implicados en el fallo viral de estos pacientes.
18. Para la correcta interpretación de la medición de niveles plasmáticos de antirretrovirales en niños con infección por VIH, es necesario considerar múltiples factores y no sólo el resultado de laboratorio. Además, la medición de las concentraciones plasmáticas de antirretrovirales en la práctica clínica habitual, es considerada de utilidad ayuda al manejo del paciente por parte del facultativo responsable.

7. BIBLIOGRAFÍA

1. Pneumocystis pneumonia--Los Angeles. MMWR Morb Mortal Wkly Rep. 1981;30:250-252
2. Barre-Sinoussi F, Chermann JC, Rey F et al. Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk for acquired immune deficiency syndrome (AIDS). Science. 1983;220:868-871
3. Farreras P, Rozman C. Infecciones causadas por retrovirus humanos: Sida. In: Harcourt, ed. Medicina Interna. Madrid, 2000
4. Krogstad P. Molecular biology of the human immunodeficiency virus: current and future targets for intervention. Semin Pediatr Infect Dis. 2003;14:258-268
5. Wang WK, Chen MY, Chuang CY et al. Molecular biology of human immunodeficiency virus type 1. J Microbiol Immunol Infect. 2000;33:131-140
6. Holguin A, Aracil B, Alvarez A et al. Prevalence of human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) non-B subtypes in foreigners living in Madrid, Spain, and comparison of the performances of the AMPLICOR HIV-1 MONITOR version 1.0 and the new automated version 1.5. J Clin Microbiol. 2001;39:1850-1854
7. Holguin A, Lospitao E, Lopez M et al. Genetic characterization of complex inter-recombinant HIV-1 strains circulating in Spain and reliability of distinct rapid subtyping tools. J Med Virol. 2008;80:383-391
8. Holguin A, Alvarez A, Soriano V. High prevalence of HIV-1 subtype G and natural polymorphisms at the protease gene among HIV-infected immigrants in Madrid. Aids. 2002;16:1163-1170
9. Yogeve R, Chadwick E. Síndrome de inmunodeficiencia adquirida (virus de la inmunodeficiencia humana). Nelson. Tratado de Pediatría. 17ª ed. Madrid, 2004:1109-1121
10. Situación de la epidemia de SIDA: Programa Conjunto de las Naciones Unidas sobre el VIH/SIDA (ONUSIDA) y la Organización Mundial de la Salud (OMS), 2005
11. UNUSIDA, OMS. Situación de la epidemia de SIDA.: http://data.unaids.org/pub/EPISlides/2007/2007_epiupdate_es.pdf, 2007
12. Harris A, Bolus NE. HIV/AIDS: an update. Radiol Technol. 2008;79:243-252; quiz 253-245
13. Shearer WT, Quinn TC, LaRussa P et al. Viral load and disease progression in infants infected with human immunodeficiency virus type 1. Women and Infants Transmission Study Group. N Engl J Med. 1997;336:1337-1342
14. Melvin AJ, Rodrigo AG, Mohan KM et al. HIV-1 dynamics in children. J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol. 1999;20:468-473
15. Valentine ME, Jackson CR, Vavro C et al. Evaluation of surrogate markers and clinical outcomes in two-year follow-up of eighty-six human immunodeficiency virus-infected pediatric patients. Pediatr Infect Dis J. 1998;17:18-23
16. HIV/AIDS: Centers for Disease Control and Prevention, 2008
17. CDC. 1994 Revised Classification System for Human Immunodeficiency Virus Infection in Children Less Than 13 Years of Age. MMWR Morb Mortal Wkly Rep. 1994;43 (No. RR-12):1-10

18. Foster C, Lyall EG. Children with HIV: improved mortality and morbidity with combination antiretroviral therapy. *Curr Opin Infect Dis.* 2005;18:253-259
19. Resino S, Gurbindo D, Cano JM et al. Predictive markers of clinical outcome in vertically HIV-1-infected infants. A prospective longitudinal study. *Pediatr Res.* 2000;47:509-515
20. HIV-1 viral load and CD4 cell count in untreated children with vertically acquired asymptomatic or mild disease. Paediatric European Network for Treatment of AIDS (PENTA). *Aids.* 1998;12:F1-8
21. Mofenson LM, Korelitz J, Meyer WA, 3rd et al. The relationship between serum human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) RNA level, CD4 lymphocyte percent, and long-term mortality risk in HIV-1-infected children. National Institute of Child Health and Human Development Intravenous Immunoglobulin Clinical Trial Study Group. *J Infect Dis.* 1997;175:1029-1038
22. Borrow P, Lewicki H, Hahn BH et al. Virus-specific CD8+ cytotoxic T-lymphocyte activity associated with control of viremia in primary human immunodeficiency virus type 1 infection. *J Virol.* 1994;68:6103-6110
23. Koup RA, Safrit JT, Cao Y et al. Temporal association of cellular immune responses with the initial control of viremia in primary human immunodeficiency virus type 1 syndrome. *J Virol.* 1994;68:4650-4655
24. Borkowsky W, Zhan MX, Chen SH et al. Correlation between HIV-Specific CD8 cell production of interferon- gamma and plasma levels of HIV RNA in perinatally infected pediatric populations. *J Infect Dis.* 2004;190:722-726
25. Ogg GS, Jin X, Bonhoeffer S et al. Quantitation of HIV-1-specific cytotoxic T lymphocytes and plasma load of viral RNA. *Science.* 1998;279:2103-2106
26. Luzuriaga K, Holmes D, Hereema A et al. HIV-1-specific cytotoxic T lymphocyte responses in the first year of life. *J Immunol.* 1995;154:433-443
27. Buseyne F, Burgard M, Teglas JP et al. Early HIV-specific cytotoxic T lymphocytes and disease progression in children born to HIV-infected mothers. *AIDS Res Hum Retroviruses.* 1998;14:1435-1444
28. Sandberg JK, Fast NM, Jordan KA et al. HIV-specific CD8+ T cell function in children with vertically acquired HIV-1 infection is critically influenced by age and the state of the CD4+ T cell compartment. *J Immunol.* 2003;170:4403-4410
29. Lopez-Bernaldo de Quiros JC, Delgado R, Garcia F et al. [Microbiological diagnosis of HIV infection]. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2007;25:632-638
30. Quesada MD, Matas L, Almeda J, Casabona J. [Early post-exposure diagnosis of HIV infection]. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2003;21:320
31. Diaz Pernas P, Riesco Riesco S, Larru Martinez B et al. [False negative diagnosis of HIV-1]. *An Pediatr (Barc).* 2006;65:158-161
32. Elbeik T, Alvord WG, Trichavaroj R et al. Comparative analysis of HIV-1 viral load assays on subtype quantification: Bayer Versant HIV-1 RNA 3.0 versus Roche Amplicor HIV-1 Monitor version 1.5. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2002;29:330-339
33. Villa L. Tratamiento de la infección por VIH. *Medimecum. Guía de terapia farmacológica.* 12ª ed, 2007:511-534

34. Morse GD, Catanzaro LM, Acosta EP. Clinical pharmacodynamics of HIV-1 protease inhibitors: use of inhibitory quotients to optimise pharmacotherapy. *Lancet Infect Dis.* 2006;6:215-225
35. Deeks SG, Kitchen CM, Liu L et al. Immune activation set point during early HIV infection predicts subsequent CD4+ T-cell changes independent of viral load. *Blood.* 2004;104:942-947
36. Guidelines for the use of antiretroviral agents in pediatric HIV infection: <http://aidsinfo.nih.gov/contentfiles/PediatricGuidelines.pdf>, 2008
37. ONUSIDA. Informe sobre la epidemia mundial de SIDA: http://www.unaids.org/es/KnowledgeCentre/HIVData/GlobalReport/2008/2008_Global_report.asp, 2008
38. Castilla J, Sobrino P, Lorenzo JM et al. [Present situation and future perspectives of the epidemic of HIV and AIDS in Spain]. *An Sist Sanit Navar.* 2006;29:13-25
39. ONUSIDA, OMS. Programa Conjunto de las Naciones Unidas sobre el VIH/SIDA (ONUSIDA) y la Organización Mundial de la Salud (OMS). Diciembre 2005.: http://www.who.int/hiv/epi-update2005_sp.pdf, 2005
40. Plan multisectorial frente a la infección por VIH y el sida. España 2008-2012: <http://www.msc.es/ciudadanos/enfLesiones/enfTransmisibles/sida/docs/PMS200812.pdf>, 2007
41. Blanche S, Newell ML, Mayaux MJ et al. Morbidity and mortality in European children vertically infected by HIV-1. The French Pediatric HIV Infection Study Group and European Collaborative Study. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol.* 1997;14:442-450
42. Sethi AK. Adherence and HIV drug resistance. *HIV Clin Trials.* 2004;5:112-115
43. Ridky T, Leis J. Development of drug resistance to HIV-1 protease inhibitors. *J Biol Chem.* 1995;270:29621-29623
44. Coffin JM. HIV population dynamics in vivo: implications for genetic variation, pathogenesis, and therapy. *Science.* 1995;267:483-489
45. Paterson DL, Swindells S, Mohr J et al. Adherence to protease inhibitor therapy and outcomes in patients with HIV infection. *Ann Intern Med.* 2000;133:21-30
46. Friedland GH, Williams A. Attaining higher goals in HIV treatment: the central importance of adherence. *Aids.* 1999;13 Suppl 1:S61-72
47. Larder BA, Darby G, Richman DD. HIV with reduced sensitivity to zidovudine (AZT) isolated during prolonged therapy. *Science.* 1989;243:1731-1734
48. Johnson VA, Brun-Vezinet F, Clotet B et al. Drug resistance mutations in HIV-1. *Top HIV Med.* 2003;11:215-221
49. Cabrera C, Clotet B. [Resistance genotyping in patients with therapeutic failure]. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2006;24:219-221
50. Baldwin C, Berkhout B. HIV-1 drug-resistance and drug-dependence. *Retrovirology.* 2007;4:78
51. Parker MM, Wade N, Lloyd RM, Jr. et al. Prevalence of genotypic drug resistance among a cohort of HIV-infected newborns. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2003;32:292-297
52. Larru Martinez B, de Jose MI, Bellon JM et al. [Prevalence of resistance to antiretroviral drugs in Spain]. *An Pediatr (Barc).* 2007;67:104-108

53. [Recommendations from the GESIDA/Spanish AIDS Plan regarding antiretroviral treatment in adults with human immunodeficiency virus infection (update January 2007)]. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2007;25:32-53
54. Deeks SG, Abrams DI. Genotypic-resistance assays and antiretroviral therapy. *Lancet*. 1997;349:1489-1490
55. Hales G, Birch C, Crowe S et al. A randomised trial comparing genotypic and virtual phenotypic interpretation of HIV drug resistance: the CREST study. *PLoS Clin Trials*. 2006;1:e18
56. Nakashima H, Matsui T, Harada S et al. Inhibition of replication and cytopathic effect of human T cell lymphotropic virus type III/lymphadenopathy-associated virus by 3'-azido-3'-deoxythymidine in vitro. *Antimicrob Agents Chemother*. 1986;30:933-937
57. Yarchoan R, Klecker RW, Weinhold KJ et al. Administration of 3'-azido-3'-deoxythymidine, an inhibitor of HTLV-III/LAV replication, to patients with AIDS or AIDS-related complex. *Lancet*. 1986;1:575-580
58. van Rossum AM, Fraaij PL, de Groot R. Efficacy of highly active antiretroviral therapy in HIV-1 infected children. *Lancet Infect Dis*. 2002;2:93-102
59. Verweel G, Saavedra-Lozano J, van Rossum AM et al. Initiating highly active antiretroviral therapy in human immunodeficiency virus type 1-infected children in Europe and the United States: comparing clinical practice to guidelines and literature evidence. *Pediatr Infect Dis J*. 2006;25:987-994
60. de Martino M, Tovo PA, Balducci M et al. Reduction in mortality with availability of antiretroviral therapy for children with perinatal HIV-1 infection. Italian Register for HIV Infection in Children and the Italian National AIDS Registry. *Jama*. 2000;284:190-197
61. Gibb DM, Duong T, Tookey PA et al. Decline in mortality, AIDS, and hospital admissions in perinatally HIV-1 infected children in the United Kingdom and Ireland. *Bmj*. 2003;327:1019
62. Lasheras B. Absorción, distribución y eliminación de fármacos. In: Del Rio J, ed. *Farmacología básica*. Madrid: Síntesis, 1996:49-66
63. Soriano F. [Pharmacokinetic and pharmacodynamic concepts for an interpretative reading of the antibiogram]. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2002;20:407-411; quiz 412
64. Ribera E, Lopez-Cortes LF, Soriano V et al. Therapeutic drug monitoring and the inhibitory quotient of antiretroviral drugs: can they be applied to the current situation? *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2005;23:55-67
65. Shulman N, Zolopa A, Havlir D et al. Virtual inhibitory quotient predicts response to ritonavir boosting of indinavir-based therapy in human immunodeficiency virus-infected patients with ongoing viremia. *Antimicrob Agents Chemother*. 2002;46:3907-3916
66. Kappelhoff BS, Crommentuyn KM, de Maat MM et al. Practical guidelines to interpret plasma concentrations of antiretroviral drugs. *Clin Pharmacokinet*. 2004;43:845-853
67. Gonzalez de Requena D, Gallego O, Valer L et al. Prediction of virological response to lopinavir/ritonavir using the genotypic inhibitory quotient. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2004;20:275-278

68. Hoefnagel JG, Koopmans PP, Burger DM et al. Role of the inhibitory quotient in HIV therapy. *Antivir Ther.* 2005;10:879-892
69. Back D, Gatti G, Fletcher C et al. Therapeutic drug monitoring in HIV infection: current status and future directions. *Aids.* 2002;16 Suppl 1:S5-37
70. Gerber JG, Acosta EP. Therapeutic drug monitoring in the treatment of HIV-infection. *J Clin Virol.* 2003;27:117-128
71. AIDSinfo Drug Database:
<http://www.aidsinfo.nih.gov/DrugsNew/Default.aspx?MenuItem=Drugs>
72. US Food and Drug Administration. Vol. 2008: <http://www.fda.gov/>
73. Zidovudine approved by FDA for treatment of AIDS. *Clin Pharm.* 1987;6:431,435
74. Zidovudine approved for use in children. *Pa Med.* 1990;93:20
75. Didanosine approved for advanced AIDS. *Am Fam Physician.* 1991;44:2246
76. FDA notifications. FDA grants approval for generic didanosine for oral solution. *AIDS Alert.* 2007;22:58-59
77. Zalcitabine approved under accelerated drug review policy. *Clin Pharm.* 1992;11:747
78. Moyle G. A re-evaluation of zalcitabine. *Expert Opin Investig Drugs.* 1998;7:451-462
79. FDA looks at full approval for d4T. Food and Drug Administration. *Posit Aware.* 1996;7:7
80. Cheer SM, Goa KL. Stavudine once daily. *Drugs.* 2002;62:2667-2674; discussion 2675-2666
81. Arpadi SM, Cuff PA, Horlick M et al. Lipodystrophy in HIV-infected children is associated with high viral load and low CD4+ -lymphocyte count and CD4+ -lymphocyte percentage at baseline and use of protease inhibitors and stavudine. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2001;27:30-34
82. Antiretroviral therapy, fat redistribution and hyperlipidaemia in HIV-infected children in Europe. *Aids.* 2004;18:1443-1451
83. James JS. Lamivudine (3TC) approved for combination use with AZT. *AIDS Treat News.* 1995:1-5
84. Yuen GJ, Lou Y, Bumgarner NF et al. Equivalent steady-state pharmacokinetics of lamivudine in plasma and lamivudine triphosphate within cells following administration of lamivudine at 300 milligrams once daily and 150 milligrams twice daily. *Antimicrob Agents Chemother.* 2004;48:176-182
85. Highleyman L. FDA approves abacavir. Food and Drug Administration. *Beta.* 1999;12:3
86. Clay PG. The abacavir hypersensitivity reaction: a review. *Clin Ther.* 2002;24:1502-1514
87. Mallal S, Phillips E, Carosi G et al. HLA-B*5701 screening for hypersensitivity to abacavir. *N Engl J Med.* 2008;358:568-579
88. Chui CK, Brumme ZL, Brumme CJ et al. A simple screening approach to reduce B*5701-associated abacavir hypersensitivity on the basis of sequence variation in HIV reverse transcriptase. *Clin Infect Dis.* 2007;44:1503-1508
89. Waters LJ, Mandalia S, Gazzard B, Nelson M. Prospective HLA-B*5701 screening and abacavir hypersensitivity: a single centre experience. *Aids.* 2007;21:2533-2534
90. FDA approves tenofovir. *AIDS Patient Care STDS.* 2002;16:52

91. Gallant JE, Staszewski S, Pozniak AL et al. Efficacy and safety of tenofovir DF vs stavudine in combination therapy in antiretroviral-naïve patients: a 3-year randomized trial. *Jama*. 2004;292:191-201
92. Hazra R, Balis FM, Tullio AN et al. Single-dose and steady-state pharmacokinetics of tenofovir disoproxil fumarate in human immunodeficiency virus-infected children. *Antimicrob Agents Chemother*. 2004;48:124-129
93. James JS. FTC (Emtriva) approved. *AIDS Treat News*. 2003;2-3
94. Ramos JT, de Jose MI, Polo R et al. [Recommendations of the CEVIHP/SEIP/AEP/PNS on antiretroviral treatment in HIV-infected children and teenagers]. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2005;23:279-312
95. De Clercq E. Antiviral drugs in current clinical use. *J Clin Virol*. 2004;30:115-133
96. Roca B, Simon E. [Non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors of the human immunodeficiency virus]. *Med Clin (Barc)*. 1998;111:660-662
97. James JS. Delavirdine (Rescriptor) approved. *AIDS Treat News*. 1997:1-3
98. Bowersox J. Nevirapine approved by FDA. Food and Drug Administration. NIAID AIDS Agenda. 1996:10
99. Verweel G, Sharland M, Lyall H et al. Nevirapine use in HIV-1-infected children. *Aids*. 2003;17:1639-1647
100. James JS. Efavirenz (SUSTIVA) approved. *AIDS Treat News*. 1998:1-4
101. Sax PE. FDA approval: etravirine. *AIDS Clin Care*. 2008;20:17-18
102. Amprenavir approved. *AIDS Patient Care STDS*. 1999;13:438
103. Lexiva (fosamprenavir) approved. *AIDS Treat News*. 2003:2
104. New protease inhibitor atazanavir (Reyataz) approved. *AIDS Treat News*. 2003:3
105. James JS. Indinavir (Crixivan), Merck protease inhibitor, approved. *AIDS Treat News*. 1996:1-2
106. Anderson PL, Brundage RC, Bushman L et al. Indinavir plasma protein binding in HIV-1-infected adults. *Aids*. 2000;14:2293-2297
107. Burger DM, van Rossum AM, Hugen PW et al. Pharmacokinetics of the protease inhibitor indinavir in human immunodeficiency virus type 1-infected children. *Antimicrob Agents Chemother*. 2001;45:701-705
108. James JS. Nelfinavir (Viracept) approved: fourth protease inhibitor available. *AIDS Treat News*. 1997:1-2
109. Burger DM, Hugen PW, Aarnoutse RE et al. Treatment failure of nelfinavir-containing triple therapy can largely be explained by low nelfinavir plasma concentrations. *Ther Drug Monit*. 2003;25:73-80
110. Floren LC, Wiznia A, Hayashi S et al. Nelfinavir pharmacokinetics in stable human immunodeficiency virus-positive children: Pediatric AIDS Clinical Trials Group Protocol 377. *Pediatrics*. 2003;112:e220-227
111. Hirt D, Urien S, Jullien V et al. Age-related effects on nelfinavir and M8 pharmacokinetics: a population study with 182 children. *Antimicrob Agents Chemother*. 2006;50:910-916
112. Gatti G, Castelli-Gattinara G, Cruciani M et al. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of nelfinavir administered twice or thrice daily to human immunodeficiency virus type 1-infected children. *Clin Infect Dis*. 2003;36:1476-1482
113. Ethyl methanesulfonate. *Rep Carcinog*. 2002;10:127-128

114. Ritonavir, Abbott protease inhibitor, approved. *AIDS Treat News*. 1996;2-3
115. Dailly E, Gagnieu MC, Allavena C et al. No significant influence of saquinavir hard-gel capsule administration on pharmacokinetics of lopinavir in combination with ritonavir: a population approach. *Ther Drug Monit*. 2005;27:782-784
116. Condra JH, Petropoulos CJ, Ziermann R et al. Drug resistance and predicted virologic responses to human immunodeficiency virus type 1 protease inhibitor therapy. *J Infect Dis*. 2000;182:758-765
117. Capparelli EV, Sullivan JL, Mofenson L et al. Pharmacokinetics of nelfinavir in human immunodeficiency virus-infected infants. *Pediatr Infect Dis J*. 2001;20:746-751
118. James JS. Saquinavir (Invirase): first protease inhibitor approved--reimbursement, information hotline numbers. *AIDS Treat News*. 1995;1-2
119. Tipranavir gets approved. *AIDS Patient Care STDS*. 2005;19:615-616
120. Plosker GL, Figgitt DP. Tipranavir. *Drugs*. 2003;63:1611-1618
121. James JS. Prezista (darunavir, TMC-114) approved; may be important treatment advance. *AIDS Treat News*. 2006;2-3
122. James JS. Kaletra (ABT-378/r) approved. *AIDS Treat News*. 2000;2-3
123. Kaletra lower-strength pediatric tablet approved in Europe. *AIDS Patient Care STDS*. 2008;22:437-438
124. Bergshoeff AS, Fraaij PL, Ndagijimana J et al. Increased dose of lopinavir/ritonavir compensates for efavirenz-induced drug-drug interaction in HIV-1-infected children. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2005;39:63-68
125. Burton A. Enfuvirtide approved for defusing HIV. *Lancet Infect Dis*. 2003;3:260
126. FDA - Fuzeon Prescribing Information: <http://www.fda.gov/cder/foi/label/2007/021481s011lbl.pdf>, 2007
127. Church JA, Hughes M, Chen J et al. Long term tolerability and safety of enfuvirtide for human immunodeficiency virus 1-infected children. *Pediatr Infect Dis J*. 2004;23:713-718
128. FDA notifications. Accelerated approval for raltegravir tablets. *AIDS Alert*. 2007;22:143-144
129. Panel on Antiretroviral Guidelines for Adults and Adolescents. Guidelines for the use of antiretroviral agents in HIV-1-infected adults and adolescents. Department of Health and Human Services: <http://www.aidsinfo.nih.gov/ContentFiles/AdultandAdolescentGL.pdf>, 2008
130. Sharland M, di Zub GC, Ramos JT et al. PENTA guidelines for the use of antiretroviral therapy in paediatric HIV infection. *Pediatric European Network for Treatment of AIDS. HIV Med*. 2002;3:215-226
131. Essajee SM, Kim M, Gonzalez C et al. Immunologic and virologic responses to HAART in severely immunocompromised HIV-1-infected children. *Aids*. 1999;13:2523-2532
132. Luzuriaga K, Bryson Y, Krogstad P et al. Combination treatment with zidovudine, didanosine, and nevirapine in infants with human immunodeficiency virus type 1 infection. *N Engl J Med*. 1997;336:1343-1349
133. Melvin AJ, Mohan KM, Arcuino LA et al. Clinical, virologic and immunologic responses of children with advanced human immunodeficiency virus type 1 disease treated with protease inhibitors. *Pediatr Infect Dis J*. 1997;16:968-974

134. Wintergerst U, Hoffmann F, Solder B et al. Comparison of two antiretroviral triple combinations including the protease inhibitor indinavir in children infected with human immunodeficiency virus. *Pediatr Infect Dis J*. 1998;17:495-499
135. Siliciano JD, Kajdas J, Finzi D et al. Long-term follow-up studies confirm the stability of the latent reservoir for HIV-1 in resting CD4+ T cells. *Nat Med*. 2003;9:727-728
136. McKinney RE, Jr., Johnson GM, Stanley K et al. A randomized study of combined zidovudine-lamivudine versus didanosine monotherapy in children with symptomatic therapy-naïve HIV-1 infection. The Pediatric AIDS Clinical Trials Group Protocol 300 Study Team. *J Pediatr*. 1998;133:500-508
137. Nachman SA, Stanley K, Yogev R et al. Nucleoside analogs plus ritonavir in stable antiretroviral therapy-experienced HIV-infected children: a randomized controlled trial. *Pediatric AIDS Clinical Trials Group 338 Study Team. Jama*. 2000;283:492-498
138. Bucher HC, Kofler A, Nuesch R et al. Meta-analysis of randomized controlled trials of simplified versus continued protease inhibitor-based antiretroviral therapy in HIV-1-infected patients. *Aids*. 2003;17:2451-2459
139. Bartlett JA, DeMasi R, Quinn J et al. Overview of the effectiveness of triple combination therapy in antiretroviral-naïve HIV-1 infected adults. *Aids*. 2001;15:1369-1377
140. Oleske JM. Review of recent guidelines for antiretroviral treatment of HIV-infected children. *Top HIV Med*. 2003;11:180-184
141. Lawrence J, Mayers DL, Hullsiek KH et al. Structured treatment interruption in patients with multidrug-resistant human immunodeficiency virus. *N Engl J Med*. 2003;349:837-846
142. Dunn D. Short-term risk of disease progression in HIV-1-infected children receiving no antiretroviral therapy or zidovudine monotherapy: a meta-analysis. *Lancet*. 2003;362:1605-1611
143. PENTA guidelines for the use of antiretroviral therapy in paediatric infection - 2008 draft revision: <http://www.pentatrials.org/guide08.pdf>, 2008
144. Wood E, Hogg RS, Yip B et al. Effect of medication adherence on survival of HIV-infected adults who start highly active antiretroviral therapy when the CD4+ cell count is 0.200 to 0.350 x 10⁹ cells/L. *Ann Intern Med*. 2003;139:810-816
145. Watson DC, Farley JJ. Efficacy of and adherence to highly active antiretroviral therapy in children infected with human immunodeficiency virus type 1. *Pediatr Infect Dis J*. 1999;18:682-689
146. Vanhove GF, Schapiro JM, Winters MA et al. Patient compliance and drug failure in protease inhibitor monotherapy. *Jama*. 1996;276:1955-1956
147. Garcia de Olalla P, Knobel H, Carmona A et al. Impact of adherence and highly active antiretroviral therapy on survival in HIV-infected patients. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2002;30:105-110
148. Nogues Solan X, Sorli Redo ML, Villar Garcia J. [Tools to measure treatment adherence]. *An Med Interna*. 2007;24:138-141
149. Iribarren JA, Labarga P, Rubio R et al. [Spanish GESIDA/Nacional AIDS Plan Recommendations for antiretroviral therapy in HIV-infected Adults (October 2004)]. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2004;22:564-642

150. Van Dyke RB, Lee S, Johnson GM et al. Reported adherence as a determinant of response to highly active antiretroviral therapy in children who have human immunodeficiency virus infection. *Pediatrics*. 2002;109:e61
151. Chong CY, Husson RN. Lack of acceptance of guidelines for prevention of disseminated *Mycobacterium avium* complex infection in infants and children infected with human immunodeficiency virus. *Pediatr Infect Dis J*. 1998;17:1131-1135
152. Murphy DA, Sarr M, Durako SJ et al. Barriers to HAART adherence among human immunodeficiency virus-infected adolescents. *Arch Pediatr Adolesc Med*. 2003;157:249-255
153. van Rossum AM, Bergshoeff AS, Fraaij PL et al. Therapeutic drug monitoring of indinavir and nelfinavir to assess adherence to therapy in human immunodeficiency virus-infected children. *Pediatr Infect Dis J*. 2002;21:743-747
154. Duong M, Piroth L, Peytavin G et al. Value of patient self-report and plasma human immunodeficiency virus protease inhibitor level as markers of adherence to antiretroviral therapy: relationship to virologic response. *Clin Infect Dis*. 2001;33:386-392
155. Farley J, Hines S, Musk A et al. Assessment of adherence to antiviral therapy in HIV-infected children using the Medication Event Monitoring System, pharmacy refill, provider assessment, caregiver self-report, and appointment keeping. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2003;33:211-218
156. Stephenson J. AIDS researchers target poor adherence. *Jama*. 1999;281:1069
157. Knobel H, Alonso J, Casado JL et al. Validation of a simplified medication adherence questionnaire in a large cohort of HIV-infected patients: the GEEMA Study. *Aids*. 2002;16:605-613
158. Hecht FM. Measuring HIV treatment adherence in clinical practice. *AIDS Clin Care*. 1998;10:57-59
159. Rudd P, Byyny RL, Zachary V et al. The natural history of medication compliance in a drug trial: limitations of pill counts. *Clin Pharmacol Ther*. 1989;46:169-176
160. Haynes RB, Sackett DL, Gibson ES et al. Improvement of medication compliance in uncontrolled hypertension. *Lancet*. 1976;1:1265-1268
161. Morisky DE, Green LW, Levine DM. Concurrent and predictive validity of a self-reported measure of medication adherence. *Med Care*. 1986;24:67-74
162. Val Jimenez A, Amoros Ballester G, Martinez Visa P et al. [Descriptive study of patient compliance in pharmacologic antihypertensive treatment and validation of the Morisky and Green test]. *Aten Primaria*. 1992;10:767-770
163. Marquez-Contreras E, Martell-Claros N, Gil-Guillen V et al. Efficacy of a home blood pressure monitoring programme on therapeutic compliance in hypertension: the EAPACUM-HTA study. *J Hypertens*. 2006;24:169-175
164. Buckwalter KC, Wakefield BJ, Hanna B, Lehmann J. New technology for medication adherence: electronically managed medication dispensing system. *J Gerontol Nurs*. 2004;30:5-8
165. Boulassel MR, Morales R, Murphy T et al. Gender and long-term metabolic toxicities from antiretroviral therapy in HIV-1 infected persons. *J Med Virol*. 2006;78:1158-1163
166. Leonard EG, McComsey GA. Metabolic complications of antiretroviral therapy in children. *Pediatr Infect Dis J*. 2003;22:77-84

167. Jaquet D, Levine M, Ortega-Rodriguez E et al. Clinical and metabolic presentation of the lipodystrophic syndrome in HIV-infected children. *Aids*. 2000;14:2123-2128
168. Beregszaszi M, Jaquet D, Levine M et al. Severe insulin resistance contrasting with mild anthropometric changes in the adipose tissue of HIV-infected children with lipohypertrophy. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2003;27:25-30
169. Barret B, Tardieu M, Rustin P et al. Persistent mitochondrial dysfunction in HIV-1-exposed but uninfected infants: clinical screening in a large prospective cohort. *Aids*. 2003;17:1769-1785
170. Church JA, Mitchell WG, Gonzalez-Gomez I et al. Mitochondrial DNA depletion, near-fatal metabolic acidosis, and liver failure in an HIV-infected child treated with combination antiretroviral therapy. *J Pediatr*. 2001;138:748-751
171. Miller KD, Masur H, Jones EC et al. High prevalence of osteonecrosis of the femoral head in HIV-infected adults. *Ann Intern Med*. 2002;137:17-25
172. Gaughan DM, Mofenson LM, Hughes MD et al. Osteonecrosis of the hip (Legg-Calve-Perthes disease) in human immunodeficiency virus-infected children. *Pediatrics*. 2002;109:E74-74
173. Mora S, Sala N, Bricalli D et al. Bone mineral loss through increased bone turnover in HIV-infected children treated with highly active antiretroviral therapy. *Aids*. 2001;15:1823-1829
174. Marzolini C, Buclin T, Decosterd LA et al. Nelfinavir plasma levels under twice-daily and three-times-daily regimens: high interpatient and low inpatient variability. *Ther Drug Monit*. 2001;23:394-398
175. Cheseaux JJ, Jotterand V, Aebi C et al. Hyperlipidemia in HIV-infected children treated with protease inhibitors: relevance for cardiovascular diseases. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2002;30:288-293
176. Moyle G. Mitochondrial toxicity hypothesis for lipodystrophy: a refutation. *Aids*. 2001;15:413-415
177. Carr A, Samaras K, Thorisdottir A et al. Diagnosis, prediction, and natural course of HIV-1 protease-inhibitor-associated lipodystrophy, hyperlipidaemia, and diabetes mellitus: a cohort study. *Lancet*. 1999;353:2093-2099
178. Vigouroux C, Gharakhanian S, Salhi Y et al. Adverse metabolic disorders during highly active antiretroviral treatments (HAART) of HIV disease. *Diabetes Metab*. 1999;25:383-392
179. Miller KD, Jones E, Yanovski JA et al. Visceral abdominal-fat accumulation associated with use of indinavir. *Lancet*. 1998;351:871-875
180. Carr A, Emery S, Law M et al. An objective case definition of lipodystrophy in HIV-infected adults: a case-control study. *Lancet*. 2003;361:726-735
181. Carr A, Law M. An objective lipodystrophy severity grading scale derived from the lipodystrophy case definition score. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2003;33:571-576
182. Vigano A, Mora S, Testolin C et al. Increased lipodystrophy is associated with increased exposure to highly active antiretroviral therapy in HIV-infected children. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2003;32:482-489

183. Joly V, Flandre P, Meiffredy V et al. Increased risk of lipoatrophy under stavudine in HIV-1-infected patients: results of a substudy from a comparative trial. *Aids*. 2002;16:2447-2454
184. Mallal SA, John M, Moore CB et al. Contribution of nucleoside analogue reverse transcriptase inhibitors to subcutaneous fat wasting in patients with HIV infection. *Aids*. 2000;14:1309-1316
185. Martinez E, Mocroft A, Garcia-Viejo MA et al. Risk of lipodystrophy in HIV-1-infected patients treated with protease inhibitors: a prospective cohort study. *Lancet*. 2001;357:592-598
186. Heath KV, Hogg RS, Singer J et al. Antiretroviral treatment patterns and incident HIV-associated morphologic and lipid abnormalities in a population-based cohort. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2002;30:440-447
187. Fomon SJ, Haschke F, Ziegler EE, Nelson SE. Body composition of reference children from birth to age 10 years. *Am J Clin Nutr*. 1982;35:1169-1175
188. Henry K, Melroe H, Huebsch J et al. Severe premature coronary artery disease with protease inhibitors. *Lancet*. 1998;351:1328
189. Tedaldi EM, Absalon J, Thomas AJ et al. Ethnicity, race, and gender. Differences in serious adverse events among participants in an antiretroviral initiation trial: results of CPCRA 058 (FIRST Study). *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2008;47:441-448
190. McComsey GA, Leonard E. Metabolic complications of HIV therapy in children. *Aids*. 2004;18:1753-1768
191. Haas DW, Ribaud HJ, Kim RB et al. Pharmacogenetics of efavirenz and central nervous system side effects: an Adult AIDS Clinical Trials Group study. *Aids*. 2004;18:2391-2400
192. Robertson J, Meier M, Wall J et al. Immune reconstitution syndrome in HIV: validating a case definition and identifying clinical predictors in persons initiating antiretroviral therapy. *Clin Infect Dis*. 2006;42:1639-1646
193. Resino S, J MB, Gurbindo D et al. Viral load and CD4+ T lymphocyte response to highly active antiretroviral therapy in human immunodeficiency virus type 1-infected children: an observational study. *Clin Infect Dis*. 2003;37:1216-1225
194. Gortmaker SL, Hughes M, Cervia J et al. Effect of combination therapy including protease inhibitors on mortality among children and adolescents infected with HIV-1. *N Engl J Med*. 2001;345:1522-1528
195. Gona P, Van Dyke RB, Williams PL et al. Incidence of opportunistic and other infections in HIV-infected children in the HAART era. *Jama*. 2006;296:292-300
196. Selik RM, Lindegren ML. Changes in deaths reported with human immunodeficiency virus infection among United States children less than thirteen years old, 1987 through 1999. *Pediatr Infect Dis J*. 2003;22:635-641
197. Palumbo PE, Raskino C, Fiscus S et al. Predictive value of quantitative plasma HIV RNA and CD4+ lymphocyte count in HIV-infected infants and children. *Jama*. 1998;279:756-761
198. Lehane DP, Menyharth P, Lum G, Levy AL. Therapeutic drug monitoring: measurements of antiepileptic and barbiturate drug levels in blood by gas chromatography with nitrogen - selective detector. *Ann Clin Lab Sci*. 1976;6:404-410

199. Reeves DS. Therapeutic drug monitoring of aminoglycoside antibiotics. *Infection*. 1980;8 Suppl 3:S 313-320
200. Fox BJ, Butcher B, Ortego R et al. Therapeutic drug monitoring experience using theophylline as a model. *J Am Osteopath Assoc*. 1981;81:264-265
201. Spector R, Park GD, Johnson GF, Vesell ES. Therapeutic drug monitoring. *Clin Pharmacol Ther*. 1988;43:345-353
202. Fletcher CV, Kawle SP, Kakuda TN et al. Zidovudine triphosphate and lamivudine triphosphate concentration-response relationships in HIV-infected persons. *Aids*. 2000;14:2137-2144
203. Murphy RL, Sommadossi JP, Lamson M et al. Antiviral effect and pharmacokinetic interaction between nevirapine and indinavir in persons infected with human immunodeficiency virus type 1. *J Infect Dis*. 1999;179:1116-1123
204. Burger D, Boyd M, Duncombe C et al. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of indinavir with or without low-dose ritonavir in HIV-infected Thai patients. *J Antimicrob Chemother*. 2003;51:1231-1238
205. Danner SA, Carr A, Leonard JM et al. A short-term study of the safety, pharmacokinetics, and efficacy of ritonavir, an inhibitor of HIV-1 protease. European-Australian Collaborative Ritonavir Study Group. *N Engl J Med*. 1995;333:1528-1533
206. Starr SE, Fletcher CV, Spector SA et al. Combination therapy with efavirenz, nelfinavir, and nucleoside reverse-transcriptase inhibitors in children infected with human immunodeficiency virus type 1. Pediatric AIDS Clinical Trials Group 382 Team. *N Engl J Med*. 1999;341:1874-1881
207. Crommentuyn KM, Scherpbier HJ, Kuijpers TW et al. Population pharmacokinetics and pharmacodynamics of nelfinavir and its active metabolite M8 in HIV-1-infected children. *Pediatr Infect Dis J*. 2006;25:538-543
208. Schinkel AH. P-Glycoprotein, a gatekeeper in the blood-brain barrier. *Adv Drug Deliv Rev*. 1999;36:179-194
209. Fellay J, Marzolini C, Meaden ER et al. Response to antiretroviral treatment in HIV-1-infected individuals with allelic variants of the multidrug resistance transporter 1: a pharmacogenetics study. *Lancet*. 2002;359:30-36
210. Gottesman MM, Hrycyna CA, Schoenlein PV et al. Genetic analysis of the multidrug transporter. *Annu Rev Genet*. 1995;29:607-649
211. Gatti G, Flaherty J, Bubp J et al. Comparative study of bioavailabilities and pharmacokinetics of clindamycin in healthy volunteers and patients with AIDS. *Antimicrob Agents Chemother*. 1993;37:1137-1143
212. Gatti G, Di Biagio A, De Pascalis CR et al. Pharmacokinetics of rifabutin in HIV-infected patients with or without wasting syndrome. *Br J Clin Pharmacol*. 1999;48:704-711
213. van Heeswijk RP, Veldkamp AI, Mulder JW et al. The steady-state pharmacokinetics of nevirapine during once daily and twice daily dosing in HIV-1-infected individuals. *Aids*. 2000;14:F77-82
214. Havlir D, Cheeseman SH, McLaughlin M et al. High-dose nevirapine: safety, pharmacokinetics, and antiviral effect in patients with human immunodeficiency virus infection. *J Infect Dis*. 1995;171:537-545

215. Smith PF, Dicenzo R, Forrest A et al. Population pharmacokinetics of delavirdine and N-delavirdine in HIV-infected individuals. *Clin Pharmacokinet.* 2005;44:99-109
216. Marzolini C, Telenti A, Decosterd LA et al. Efavirenz plasma levels can predict treatment failure and central nervous system side effects in HIV-1-infected patients. *Aids.* 2001;15:71-75
217. Csajka C, Marzolini C, Fattinger K et al. Population pharmacokinetics and effects of efavirenz in patients with human immunodeficiency virus infection. *Clin Pharmacol Ther.* 2003;73:20-30
218. Gatti G, Di Biagio A, De Pascalis C. Interoccasion variability of indinavir in HIV-infected patients. *Clin Pharmacol Ther.* 2000;67:156
219. Acosta EP, Kakuda TN, Brundage RC et al. Pharmacodynamics of human immunodeficiency virus type 1 protease inhibitors. *Clin Infect Dis.* 2000;30 Suppl 2:S151-159
220. Hoetelmans RM, Reijers MH, Weverling GJ et al. The effect of plasma drug concentrations on HIV-1 clearance rate during quadruple drug therapy. *Aids.* 1998;12:F111-115
221. Regazzi MB, Villani P, Maserati R et al. Pharmacokinetic variability and strategy for therapeutic drug monitoring of saquinavir (SQV) in HIV-1 infected individuals. *Br J Clin Pharmacol.* 1999;47:379-382
222. Autar RS, Boffito M, Hassink E et al. Interindividual variability of once-daily ritonavir boosted saquinavir pharmacokinetics in Thai and UK patients. *J Antimicrob Chemother.* 2005;56:908-913
223. Acosta EP, Henry K, Baken L et al. Indinavir concentrations and antiviral effect. *Pharmacotherapy.* 1999;19:708-712
224. Barry MG, Merry C, Lloyd J et al. Variability in trough plasma saquinavir concentrations in HIV patients--a case for therapeutic drug monitoring. *Br J Clin Pharmacol.* 1998;45:501-502
225. Guiard-Schmid JB, Poirier JM, Meynard JL et al. High variability of plasma drug concentrations in dual protease inhibitor regimens. *Antimicrob Agents Chemother.* 2003;47:986-990
226. Burger DM, Hugen PW, Aarnoutse RE et al. A retrospective, cohort-based survey of patients using twice-daily indinavir + ritonavir combinations: pharmacokinetics, safety, and efficacy. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2001;26:218-224
227. Aarnoutse RE, Schapiro JM, Boucher CA et al. Therapeutic drug monitoring: an aid to optimising response to antiretroviral drugs? *Drugs.* 2003;63:741-753
228. Nettles RE, Kieffer TL, Parsons T et al. Marked intraindividual variability in antiretroviral concentrations may limit the utility of therapeutic drug monitoring. *Clin Infect Dis.* 2006;42:1189-1196
229. Hsu A, Granneman GR, Witt G et al. Multiple-dose pharmacokinetics of ritonavir in human immunodeficiency virus-infected subjects. *Antimicrob Agents Chemother.* 1997;41:898-905
230. Moore KH, Barrett JE, Shaw S et al. The pharmacokinetics of lamivudine phosphorylation in peripheral blood mononuclear cells from patients infected with HIV-1. *Aids.* 1999;13:2239-2250
231. Kewn S, Hoggard PG, Sales SD et al. Development of enzymatic assays for quantification of intracellular lamivudine and carbovir triphosphate levels in

- peripheral blood mononuclear cells from human immunodeficiency virus-infected patients. *Antimicrob Agents Chemother.* 2002;46:135-143
232. Colombo S, Telenti A, Buclin T et al. Are plasma levels valid surrogates for cellular concentrations of antiretroviral drugs in HIV-infected patients? *Ther Drug Monit.* 2006;28:332-338
233. Durant J, Clevenbergh P, Garraffo R et al. Importance of protease inhibitor plasma levels in HIV-infected patients treated with genotypic-guided therapy: pharmacological data from the Viradapt Study. *Aids.* 2000;14:1333-1339
234. Dumon C, Solas C, Thuret I et al. Relationship between efficacy, tolerance, and plasma drug concentration of ritonavir in children with advanced HIV infection. *Ther Drug Monit.* 2000;22:402-408
235. Gieschke R, Fotteler B, Buss N, Steimer JL. Relationships between exposure to saquinavir monotherapy and antiviral response in HIV-positive patients. *Clin Pharmacokinet.* 1999;37:75-86
236. Burger DM, Hoetelmans RM, Hugen PW et al. Low plasma concentrations of indinavir are related to virological treatment failure in HIV-1-infected patients on indinavir-containing triple therapy. *Antivir Ther.* 1998;3:215-220
237. Anderson PL, Brundage RC, Kakuda TN, Fletcher CV. CD4 response is correlated with peak plasma concentrations of indinavir in adults with undetectable human immunodeficiency virus ribonucleic acid. *Clin Pharmacol Ther.* 2002;71:280-285
238. Pellegrin I, Breilh D, Montestruc F et al. Virologic response to nelfinavir-based regimens: pharmacokinetics and drug resistance mutations (VIRAPHAR study). *Aids.* 2002;16:1331-1340
239. Baxter JD, Merigan TC, Wentworth DN et al. Both baseline HIV-1 drug resistance and antiretroviral drug levels are associated with short-term virologic responses to salvage therapy. *Aids.* 2002;16:1131-1138
240. Durant J, Clevenbergh P, Halfon P et al. Drug-resistance genotyping in HIV-1 therapy: the VIRADAPT randomised controlled trial. *Lancet.* 1999;353:2195-2199
241. Veldkamp AI, Weverling GJ, Lange JM et al. High exposure to nevirapine in plasma is associated with an improved virological response in HIV-1-infected individuals. *Aids.* 2001;15:1089-1095
242. Montaner JS, Reiss P, Cooper D et al. A randomized, double-blind trial comparing combinations of nevirapine, didanosine, and zidovudine for HIV-infected patients: the INCAS Trial. Italy, The Netherlands, Canada and Australia Study. *Jama.* 1998;279:930-937
243. Wintergerst U, Hoffmann F, Jansson A et al. Antiviral efficacy, tolerability and pharmacokinetics of efavirenz in an unselected cohort of HIV-infected children. *J Antimicrob Chemother.* 2008;61:1336-1339
244. Arrizabalaga J, Alcamí J, Dalmau D et al. [Laboratory tools for personalising treatment: resistance and drug levels]. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2002;20:35-47
245. Dieleman JP, Gyssens IC, van der Ende ME et al. Urological complaints in relation to indinavir plasma concentrations in HIV-infected patients. *Aids.* 1999;13:473-478
246. Gatti G, Di Biagio A, Casazza R et al. The relationship between ritonavir plasma levels and side-effects: implications for therapeutic drug monitoring. *Aids.* 1999;13:2083-2089

247. Gonzalez de Requena D, Nunez M, Jimenez-Nacher I, Soriano V. Liver toxicity caused by nevirapine. *Aids*. 2002;16:290-291
248. Sadler BM, Gillotin C, Lou Y, Stein DS. Pharmacokinetic and pharmacodynamic study of the human immunodeficiency virus protease inhibitor amprenavir after multiple oral dosing. *Antimicrob Agents Chemother*. 2001;45:30-37
249. Padberg J, Fritsche L, Bergmann F et al. Nephropathy and renal colic in patients treated with indinavir, ritonavir plus indinavir or ritonavir plus saquinavir. *Aids*. 1999;13:2173-2174
250. Treluyer JM, Morini JP, Dimet J et al. High concentrations of nelfinavir as an independent risk factor for lipodystrophy in human immunodeficiency virus-infected patients. *Antimicrob Agents Chemother*. 2002;46:4009-4012
251. Burger D, Hugen P, Reiss P et al. Therapeutic drug monitoring of nelfinavir and indinavir in treatment-naïve HIV-1-infected individuals. *Aids*. 2003;17:1157-1165
252. Fletcher CV, Anderson PL, Kakuda TN et al. Concentration-controlled compared with conventional antiretroviral therapy for HIV infection. *Aids*. 2002;16:551-560
253. Clevenbergh P, Garraffo R, Durant J, Dellamonica P. PharmAdapt: a randomized prospective study to evaluate the benefit of therapeutic monitoring of protease inhibitors: 12 week results. *Aids*. 2002;16:2311-2315
254. Bossi P, Peytavin G, Ait-Mohand H et al. GENOPHAR: a randomized study of plasma drug measurements in association with genotypic resistance testing and expert advice to optimize therapy in patients failing antiretroviral therapy. *HIV Med*. 2004;5:352-359
255. Kakuda TN, Page LM, Anderson PL et al. Pharmacological basis for concentration-controlled therapy with zidovudine, lamivudine, and indinavir. *Antimicrob Agents Chemother*. 2001;45:236-242
256. Baede-van Dijk PA, Hugen PW, Verweij-van Wissen CP et al. Analysis of variation in plasma concentrations of nelfinavir and its active metabolite M8 in HIV-positive patients. *Aids*. 2001;15:991-998
257. Torti C, Quiros-Roldan E, Regazzi M et al. A randomized controlled trial to evaluate antiretroviral salvage therapy guided by rules-based or phenotype-driven HIV-1 genotypic drug-resistance interpretation with or without concentration-controlled intervention: the Resistance and Dosage Adapted Regimens (RADAR) study. *Clin Infect Dis*. 2005;40:1828-1836
258. Rendon A, Nunez M, Jimenez-Nacher I et al. Clinical benefit of interventions driven by therapeutic drug monitoring. *HIV Med*. 2005;6:360-365
259. Back DJ, Khoo SH, Gibbons SE, Merry C. The role of therapeutic drug monitoring in treatment of HIV infection. *Br J Clin Pharmacol*. 2001;52 Suppl 1:89S-96S
260. Burger DM, Aarnoutse RE, Hugen PW. Pros and cons of therapeutic drug monitoring of antiretroviral agents. *Curr Opin Infect Dis*. 2002;15:17-22
261. Van Heeswijk RP. Critical issues in therapeutic drug monitoring of antiretroviral drugs. *Ther Drug Monit*. 2002;24:323-331
262. Justesen US. Therapeutic drug monitoring and human immunodeficiency virus (HIV) antiretroviral therapy. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*. 2006;98:20-31

263. Dahri K, Ensom MH. Efavirenz and nevirapine in HIV-1 infection : is there a role for clinical pharmacokinetic monitoring? *Clin Pharmacokinet.* 2007;46:109-132
264. Wit FW, van Leeuwen R, Weverling GJ et al. Outcome and predictors of failure of highly active antiretroviral therapy: one-year follow-up of a cohort of human immunodeficiency virus type 1-infected persons. *J Infect Dis.* 1999;179:790-798
265. Rezk NL, Tidwell RR, Kashuba AD. High-performance liquid chromatography assay for the quantification of HIV protease inhibitors and non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors in human plasma. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 2004;805:241-247
266. Marino EL, Albert V, Ferrer MS et al. [Development and validation of laboratory methods for antiretroviral quantitation using HPLC]. *Farm Hosp.* 2006;30:374-378
267. Lemmer P, Schneider S, Schuman M et al. Determination of nevirapine and efavirenz in plasma using GC/MS in selected ion monitoring mode. *Ther Drug Monit.* 2005;27:521-525
268. Azoulay S, Nevers MC, Creminon C et al. An enzyme immunoassay for the quantification of plasma and intracellular lopinavir in HIV-infected patients. *J Immunol Methods.* 2004;295:37-48
269. Frerichs VA, DiFrancesco R, Morse GD. Determination of protease inhibitors using liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 2003;787:393-403
270. Dickinson L, Robinson L, Tjia J et al. Simultaneous determination of HIV protease inhibitors amprenavir, atazanavir, indinavir, lopinavir, nelfinavir, ritonavir and saquinavir in human plasma by high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 2005;829:82-90
271. Soldin SJ, Rakhmanina NY, Spiegel HM, Sever JL. Therapeutic drug monitoring for patients with HIV infection: Children's National Medical Center, Washington DC experience. *Ther Drug Monit.* 2004;26:107-109
272. Dailly E, Raffi F, Jolliet P. Determination of atazanavir and other antiretroviral drugs (indinavir, amprenavir, nelfinavir and its active metabolite M8, saquinavir, ritonavir, lopinavir, nevirapine and efavirenz) plasma levels by high performance liquid chromatography with UV detection. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 2004;813:353-358
273. Notari S, Bocedi A, Ippolito G et al. Simultaneous determination of 16 anti-HIV drugs in human plasma by high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 2006;831:258-266
274. Justesen US, Pedersen C, Klitgaard NA. Simultaneous quantitative determination of the HIV protease inhibitors indinavir, amprenavir, ritonavir, lopinavir, saquinavir, nelfinavir and the nelfinavir active metabolite M8 in plasma by liquid chromatography. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 2003;783:491-500
275. Medicare, Medicaid and CLIA programs; regulations implementing the Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988 (CLIA)--HCFA. Final rule with comment period. *Fed Regist.* 1992;57:7002-7186

276. Droste JA, Aarnoutse RE, Koopmans PP et al. Evaluation of antiretroviral drug measurements by an interlaboratory quality control program. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2003;32:287-291
277. Colombo S, Beguin A, Telenti A et al. Intracellular measurements of anti-HIV drugs indinavir, amprenavir, saquinavir, ritonavir, nelfinavir, lopinavir, atazanavir, efavirenz and nevirapine in peripheral blood mononuclear cells by liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*. 2005;819:259-276
278. Barrail A, Le Tiec C, Paci-Bonaventure S et al. Determination of amprenavir total and unbound concentrations in plasma by high-performance liquid chromatography and ultrafiltration. *Ther Drug Monit*. 2006;28:89-94
279. Breilh D, Pellegrin I, Rouzes A et al. Virological, intracellular and plasma pharmacological parameters predicting response to lopinavir/ritonavir (KALEPHAR study). *Aids*. 2004;18:1305-1310
280. Acosta EP, King JR. Methods for integration of pharmacokinetic and phenotypic information in the treatment of infection with human immunodeficiency virus. *Clin Infect Dis*. 2003;36:373-377
281. Csajka C, Marzolini C, Fattinger K et al. Population pharmacokinetics of indinavir in patients infected with human immunodeficiency virus. *Antimicrob Agents Chemother*. 2004;48:3226-3232
282. Goicoechea M, Vidal A, Capparelli E et al. A computer-based system to aid in the interpretation of plasma concentrations of antiretrovirals for therapeutic drug monitoring. *Antivir Ther*. 2007;12:55-62
283. Hill A. Reliability of Cmin: inhibitory concentration ratios. *J Infect Dis*. 2001;183:992-994
284. Kiser JJ, Anderson PL, Gerber JG. Therapeutic drug monitoring: pharmacologic considerations for antiretroviral drugs. *Curr HIV/AIDS Rep*. 2005;2:61-67
285. Touw DJ, Neef C, Thomson AH, Vinks AA. Cost-effectiveness of therapeutic drug monitoring: a systematic review. *Ther Drug Monit*. 2005;27:10-17
286. Bushen OY, Davenport JA, Lima AB et al. Diarrhea and reduced levels of antiretroviral drugs: improvement with glutamine or alanyl-glutamine in a randomized controlled trial in northeast Brazil. *Clin Infect Dis*. 2004;38:1764-1770
287. Rockstroh JK, Mocroft A, Soriano V et al. Influence of hepatitis C virus infection on HIV-1 disease progression and response to highly active antiretroviral therapy. *J Infect Dis*. 2005;192:992-1002
288. Khaliq Y, Gallicano K, Seguin I et al. Single and multiple dose pharmacokinetics of nelfinavir and CYP2C19 activity in human immunodeficiency virus-infected patients with chronic liver disease. *Br J Clin Pharmacol*. 2000;50:108-115
289. Lee LS, Andrade AS, Flexner C. Interactions between natural health products and antiretroviral drugs: pharmacokinetic and pharmacodynamic effects. *Clin Infect Dis*. 2006;43:1052-1059
290. Acosta EP, Zorrilla C, Van Dyke R et al. Pharmacokinetics of saquinavir-SGC in HIV-infected pregnant women. *HIV Clin Trials*. 2001;2:460-465

291. Angel JB, Khaliq Y, Monpetit ML et al. An argument for routine therapeutic drug monitoring of HIV-1 protease inhibitors during pregnancy. *Aids*. 2001;15:417-419
292. Kearns GL, Abdel-Rahman SM, Alander SW et al. Developmental pharmacology--drug disposition, action, and therapy in infants and children. *N Engl J Med*. 2003;349:1157-1167
293. Molto J, Clotet B. Therapeutic drug monitoring of antiretroviral agents scenario. *J HIV Ther*. 2004;9:75-78
294. Rodriguez-Novoa S, Morello J, Barreiro P et al. Switch from ritonavir-boosted to unboosted atazanavir guided by therapeutic drug monitoring. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2008;24:821-825
295. Morello J, Gasco PG, Rodriguez-Novoa S et al. Association between tipranavir plasma levels and virological response in HIV-infected patients. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2008;24:389-391
296. Molto J, Santos JR, Valle M et al. Monitoring atazanavir concentrations with boosted or unboosted regimens in HIV-infected patients in routine clinical practice. *Ther Drug Monit*. 2007;29:648-651
297. Molto J, Blanco A, Miranda C et al. Variability in non-nucleoside reverse transcriptase and protease inhibitors concentrations among HIV-infected adults in routine clinical practice. *Br J Clin Pharmacol*. 2007;63:715-721
298. Gutierrez F, Navarro A, Padilla S et al. Prediction of neuropsychiatric adverse events associated with long-term efavirenz therapy, using plasma drug level monitoring. *Clin Infect Dis*. 2005;41:1648-1653
299. Casado JL, Moreno A, Sabido R et al. A clinical study of the combination of 100 mg ritonavir plus 800 mg indinavir as salvage therapy: influence of increased plasma drug levels in the rate of response. *HIV Clin Trials*. 2000;1:13-19
300. Fraaij PL, van Kampen JJ, Burger DM, de Groot R. Pharmacokinetics of antiretroviral therapy in HIV-1-infected children. *Clin Pharmacokinet*. 2005;44:935-956
301. Fraaij PL, Rakhmanina N, Burger DM, de Groot R. Therapeutic drug monitoring in children with HIV/AIDS. *Ther Drug Monit*. 2004;26:122-126
302. Fraaij PL, Bergshoeff AS, van Rossum AM et al. Changes in indinavir exposure over time: a case study in six HIV-1-infected children. *J Antimicrob Chemother*. 2003;52:727-730
303. Saitoh A, Fletcher CV, Brundage R et al. Efavirenz pharmacokinetics in HIV-1-infected children are associated with CYP2B6-G516T polymorphism. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2007;45:280-285
304. Tanner JM, Whitehouse RH. Clinical longitudinal standards for height, weight, height velocity, weight velocity, and stages of puberty. *Arch Dis Child*. 1976;51:170-179
305. Sarasa-Nacenta M, Lopez-Pua Y, Mallolas J et al. Simultaneous determination of the HIV-protease inhibitors indinavir, amprenavir, ritonavir, saquinavir and nelfinavir in human plasma by reversed-phase high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl*. 2001;757:325-332
306. Shish JC, Catanzaro LM, Ma Q et al. Update on the pharmacokinetic aspects of antiretroviral agents: implications in therapeutic drug monitoring. *Curr Pharm Des*. 2006;12:1129-1145

307. van Rossum AM, de Groot R, Hartwig NG et al. Pharmacokinetics of indinavir and low-dose ritonavir in children with HIV-1 infection. *Aids*. 2000;14:2209-2210
308. Solas C, Basso S, Poizot-Martin I et al. High indinavir Cmin is associated with higher toxicity in patients on indinavir-ritonavir 800/100 mg twice-daily regimen. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2002;29:374-377
309. Langmann P, Zilly M, Weissbrich B et al. Therapeutic drug monitoring of indinavir in HIV-infected patients undergoing HAART. *Infection*. 2002;30:13-16
310. Albert J, Fenyo EM. Simple, sensitive, and specific detection of human immunodeficiency virus type 1 in clinical specimens by polymerase chain reaction with nested primers. *J Clin Microbiol*. 1990;28:1560-1564
311. Resino S, Correa R, Segovia P et al. Identificación de mujeres embarazadas infectadas por el VIH-1: significado de pruebas serológicas indeterminadas. *Prog Obstet Ginecol*. 2000;43:53-60
312. Resino S, Navarro J, Bellon JM et al. Naive and memory CD4+ T cells and T cell activation markers in HIV-1 infected children on HAART. *Clin Exp Immunol*. 2001;125:266-273
313. Navarro J, Resino S, Bellon JM et al. Association of CD8+ T lymphocyte subsets with the most commonly used markers to monitor HIV type 1 infection in children treated with highly active antiretroviral therapy. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2001;17:525-532
314. Liu TF, Shafer RW. Web resources for HIV type 1 genotypic-resistance test interpretation. *Clin Infect Dis*. 2006;42:1608-1618
315. Armitage P, Berry G. Comparación de varios grupos. In: Doyma, ed. *Estadística para la investigación Biomédica*. Barcelona, 1992:217-249
316. Armitage P, Berry G. Análisis de Supervivencia. In: Doyma, ed. *Estadística para la investigación Biomédica*. Barcelona, 1992:493-515
317. Armitage P, Berry G. Métodos no paramétricos. In: Doyma, ed. *Estadística para la investigación Biomédica*. Barcelona, 1992:477-492
318. Álvarez R. Estadística no paramétrica. El procedimiento Npar. In: Dd S, ed. *Estadística multivariante y no paramétrica con SPSS*. Madrid, 1995:305-382
319. Patel K, Hernan MA, Williams PL et al. Long-term effectiveness of highly active antiretroviral therapy on the survival of children and adolescents with HIV infection: a 10-year follow-up study. *Clin Infect Dis*. 2008;46:507-515
320. Palmer S, Maldarelli F, Wiegand A et al. Low-level viremia persists for at least 7 years in patients on suppressive antiretroviral therapy. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008;105:3879-3884
321. Deeks SG, Hecht FM, Swanson M et al. HIV RNA and CD4 cell count response to protease inhibitor therapy in an urban AIDS clinic: response to both initial and salvage therapy. *Aids*. 1999;13:F35-43
322. Dorrucci M, Pezzotti P, Grisorio B et al. Time to discontinuation of the first highly active antiretroviral therapy regimen: a comparison between protease inhibitor- and non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor-containing regimens. *Aids*. 2001;15:1733-1736
323. Phillips AN, Leen C, Wilson A et al. Risk of extensive virological failure to the three original antiretroviral drug classes over long-term follow-up from the start of therapy in patients with HIV infection: an observational cohort study. *Lancet*. 2007;370:1923-1928

324. Anderson PL, Fletcher CV. Updated clinical pharmacologic considerations for HIV-1 protease inhibitors. *Curr HIV/AIDS Rep.* 2004;1:33-39
325. Sepkowitz KA. One disease, two epidemics--AIDS at 25. *N Engl J Med.* 2006;354:2411-2414
326. Ren Y, Nuttall JJ, Egbers C et al. High prevalence of subtherapeutic plasma concentrations of efavirenz in children. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2007;45:133-136
327. Rongkavilit C, van Heeswijk RP, Limpongsanurak S et al. Dose-escalating study of the safety and pharmacokinetics of nelfinavir in HIV-exposed neonates. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2002;29:455-463
328. van Heeswijk RP, Scherpbier HJ, de Koning LA et al. The pharmacokinetics of nelfinavir in HIV-1-infected children. *Ther Drug Monit.* 2002;24:487-491
329. Gatti G, Pontali E, Boni S et al. The relationship between ritonavir plasma trough concentration and virological and immunological response in HIV-infected children. *HIV Med.* 2002;3:125-128
330. Gatti G, Vigano A, Sala N et al. Indinavir pharmacokinetics and pharmacodynamics in children with human immunodeficiency virus infection. *Antimicrob Agents Chemother.* 2000;44:752-755
331. Burger DM, Bergshoeff AS, De Groot R et al. Maintaining the nelfinavir trough concentration above 0.8 mg/L improves virologic response in HIV-1-infected children. *J Pediatr.* 2004;145:403-405
332. Fletcher CV, Brundage RC, Remmel RP et al. Pharmacologic characteristics of indinavir, didanosine, and stavudine in human immunodeficiency virus-infected children receiving combination therapy. *Antimicrob Agents Chemother.* 2000;44:1029-1034
333. Rakhmanina NY, van den Anker JN, Soldin SJ. Therapeutic drug monitoring of antiretroviral therapy. *AIDS Patient Care STDS.* 2004;18:7-14
334. Ramos Amador JT, Mellado Pena MJ. [Update on antiretroviral treatment in HIV infection]. *An Pediatr (Barc).* 2004;60:254-261
335. Sacristan JA, Soto J, Galende I. [Critical evaluation of clinical trials]. *Med Clin (Barc).* 1993;100:780-787
336. Crommentuyn KM, Kappelhoff BS, Mulder JW et al. Population pharmacokinetics of lopinavir in combination with ritonavir in HIV-1-infected patients. *Br J Clin Pharmacol.* 2005;60:378-389
337. Sharland M, Blanche S, Castelli G et al. PENTA guidelines for the use of antiretroviral therapy, 2004. *HIV Med.* 2004;5 Suppl 2:61-86
338. Fortuny C, González R, Polo R. Recomendaciones CEVIHP/SEIP/AEP/PNS respecto al tratamiento antirretroviral en niños y adolescentes infectados por el Virus de la Inmunodeficiencia Humana (VIH): http://www.msc.es/va/ciudadanos/enfLesiones/enfTransmisibles/sida/docs/guiasAntirretroviral_ninosAdolescentes2008.pdf, 2008
339. Justesen US. Protease inhibitor plasma concentrations in HIV antiretroviral therapy. *Dan Med Bull.* 2008;55:165-185
340. Antoniou T, Tseng AL, van Heeswijk RP et al. Steady-state pharmacokinetics and tolerability of indinavir-lopinavir/r combination therapy in antiretroviral-experienced patients. *Ther Drug Monit.* 2005;27:779-781
341. Mallon PW, Ray J, Cooper DA. Effect of therapeutic drug monitoring on outcome in antiretroviral experienced HIV-infected individuals. *J Clin Virol.* 2003;26:223-227

342. Dasgupta A, Okhuysen PC. Pharmacokinetic and other drug interactions in patients with AIDS. *Ther Drug Monit.* 2001;23:591-605
343. Dresser GK, Spence JD, Bailey DG. Pharmacokinetic-pharmacodynamic consequences and clinical relevance of cytochrome P450 3A4 inhibition. *Clin Pharmacokinet.* 2000;38:41-57
344. Morales Conejo M, Moreno Cuerda VJ, Abellan Martinez J, Rubio R. [Serious adverse events derived from the drug interactions of antiretroviral therapy]. *Rev Clin Esp.* 2008;208:557-560
345. Aberg JA. Drug-drug interactions with newer antiretroviral agents. *Top HIV Med.* 2008;16:146-150
346. Ray GM. Antiretroviral and statin drug-drug interactions. *Cardiol Rev.* 2009;17:44-47
347. Luber AD, Brower R, Kim D et al. Steady-state pharmacokinetics of once-daily fosamprenavir/ritonavir and atazanavir/ritonavir alone and in combination with 20 mg omeprazole in healthy volunteers. *HIV Med.* 2007;8:457-464
348. Fang AF, Damle BD, LaBadie RR et al. Significant decrease in nelfinavir systemic exposure after omeprazole coadministration in healthy subjects. *Pharmacotherapy.* 2008;28:42-50
349. Chiu YL, Klein CE, Woodward WC et al. Lack of effect of gastric acid-reducing agents on the pharmacokinetics of lopinavir/ritonavir in HIV-infected patients. *AIDS Patient Care STDS.* 2007;21:247-251
350. Klein CE, Chiu YL, Cai Y et al. Effects of acid-reducing agents on the pharmacokinetics of lopinavir/ritonavir and ritonavir-boosted atazanavir. *J Clin Pharmacol.* 2008;48:553-562
351. van Heeswijk RP, Veldkamp A, Mulder JW et al. Combination of protease inhibitors for the treatment of HIV-1-infected patients: a review of pharmacokinetics and clinical experience. *Antivir Ther.* 2001;6:201-229
352. de Maat MM, Huitema AD, Mulder JW et al. Subtherapeutic antiretroviral plasma concentrations in routine clinical outpatient HIV care. *Ther Drug Monit.* 2003;25:367-373
353. Alexander CS, Asselin JJ, Ting LS et al. Antiretroviral concentrations in untimed plasma samples predict therapy outcome in a population with advanced disease. *J Infect Dis.* 2003;188:541-548
354. Aries S, Schaaf B, Wilmsen U et al. Routine therapeutic drug monitoring in patients on protease inhibitors: impact on therapeutic decisions? 5th International Congress on Drug Therapy in HIV infection [abstract P264A]. *AIDS.* 2000;14 (suppl 4):S91
355. Podsadecki TJ, Vrijens BC, Tousset EP et al. "White coat compliance" limits the reliability of therapeutic drug monitoring in HIV-1-infected patients. *HIV Clin Trials.* 2008;9:238-246
356. von Hentig N, Babacan E, Lennemann T et al. The steady-state pharmacokinetics of atazanavir/ritonavir in HIV-1-infected adult outpatients is not affected by gender-related co-factors. *J Antimicrob Chemother.* 2008;62:579-582
357. Manosuthi W, Sungkanuparph S, Ruxrungtham K et al. Plasma levels, safety, and 60-week efficacy of a once-daily double-boosted protease inhibitor regimen of atazanavir, saquinavir, and ritonavir. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2008;47:127-129

358. Fuster D, Clotet B. Review of atazanavir: a novel HIV protease inhibitor. *Expert Opin Pharmacother*. 2005;6:1565-1572
359. Rodriguez-Novoa S, Martin-Carbonero L, Barreiro P et al. Genetic factors influencing atazanavir plasma concentrations and the risk of severe hyperbilirubinemia. *Aids*. 2007;21:41-46
360. Busti AJ, Hall RG, Margolis DM. Atazanavir for the treatment of human immunodeficiency virus infection. *Pharmacotherapy*. 2004;24:1732-1747
361. Malan DR, Krantz E, David N et al. Efficacy and safety of atazanavir, with or without ritonavir, as part of once-daily highly active antiretroviral therapy regimens in antiretroviral-naïve patients. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2008;47:161-167
362. Ramos J, González-Tomé M, Guillén S et al. Estudio multicéntrico de una cohorte de niños infectados en la Comunidad de Madrid. XI Congreso Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC). Abstract 28. Vol. Abstract 28. Bilbao, 2004
363. Wertheimer BZ, Freedberg KA, Walensky RP et al. Therapeutic drug monitoring in HIV treatment: a literature review. *HIV Clin Trials*. 2006;7:59-69
364. Working Group on Antiretroviral Therapy and Medical Management of HIV-Infected Children. Guidelines for the use of antiretroviral agents in pediatric HIV infection: <http://aidsinfo.nih.gov/ContentFiles/PediatricGuidelines.pdf>, 2009
365. Giacommet V, Albano F, Starace F et al. Adherence to antiretroviral therapy and its determinants in children with human immunodeficiency virus infection: a multicentre, national study. *Acta Paediatr*. 2003;92:1398-1402
366. LePrevost M, Green H, Flynn J et al. Adherence and acceptability of once daily Lamivudine and abacavir in human immunodeficiency virus type-1 infected children. *Pediatr Infect Dis J*. 2006;25:533-537
367. Moore DM, Hogg RS, Yip B et al. Regimen-dependent variations in adherence to therapy and virological suppression in patients initiating protease inhibitor-based highly active antiretroviral therapy. *HIV Med*. 2006;7:311-316
368. Back D, Gibbons S, Khoo S. An update on therapeutic drug monitoring for antiretroviral drugs. *Ther Drug Monit*. 2006;28:468-473
369. Bonfanti P, Martinelli C, Ricci E et al. An Italian approach to postmarketing monitoring: preliminary results from the SCOLTA (Surveillance Cohort Long-Term Toxicity Antiretrovirals) project on the safety of lopinavir/ritonavir. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2005;39:317-320
370. Resino S, Bellon JM, Ramos JT et al. Positive virological outcome after lopinavir/ritonavir salvage therapy in protease inhibitor-experienced HIV-1-infected children: a prospective cohort study. *J Antimicrob Chemother*. 2004;54:921-931
371. Reijers MH, Weigel HM, Hart AA et al. Toxicity and drug exposure in a quadruple drug regimen in HIV-1 infected patients participating in the ADAM study. *Aids*. 2000;14:59-67
372. Beregszaszi M, Dollfus C, Levine M et al. Longitudinal evaluation and risk factors of lipodystrophy and associated metabolic changes in HIV-infected children. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2005;40:161-168

373. Ene L, Goetghebuer T, Hainaut M et al. Prevalence of lipodystrophy in HIV-infected children: a cross-sectional study. *Eur J Pediatr*. 2007;166:13-21
374. Hartman K, Verweel G, de Groot R, Hartwig NG. Detection of lipoatrophy in human immunodeficiency virus-1-infected children treated with highly active antiretroviral therapy. *Pediatr Infect Dis J*. 2006;25:427-431
375. Solorzano Santos F, Gochicoa Rangel LG, Palacios Saucedo G et al. Hypertriglyceridemia and hypercholesterolemia in human immunodeficiency virus-1-infected children treated with protease inhibitors. *Arch Med Res*. 2006;37:129-132
376. Cameron DW, Becker S, King MS et al. Exploratory study comparing the metabolic toxicities of a lopinavir/ritonavir plus saquinavir dual protease inhibitor regimen versus a lopinavir/ritonavir plus zidovudine/lamivudine nucleoside regimen. *J Antimicrob Chemother*. 2007;59:957-963
377. Clevenbergh P, Garraffo R, Dellamonica P. Impact of various antiretroviral drugs and their plasma concentrations on plasma lipids in heavily pretreated HIV-infected patients. *HIV Clin Trials*. 2003;4:330-336
378. Gutierrez F, Padilla S, Masia M et al. Changes in body fat composition after 1 year of salvage therapy with lopinavir/ritonavir-containing regimens and its relationship with lopinavir plasma concentrations. *Antivir Ther*. 2004;9:105-113
379. Gutierrez F, Padilla S, Navarro A et al. Lopinavir plasma concentrations and changes in lipid levels during salvage therapy with lopinavir/ritonavir-containing regimens. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2003;33:594-600
380. Leon A, Martinez E, Sarasa M et al. Impact of steady-state lopinavir plasma levels on plasma lipids and body composition after 24 weeks of lopinavir/ritonavir-containing therapy free of thymidine analogues. *J Antimicrob Chemother*. 2007;60:824-830
381. Torti C, Quiros-Roldan E, Regazzi-Bonora M et al. Lipid abnormalities in HIV-infected patients are not correlated with lopinavir plasma concentrations. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2004;35:324-326
382. Gonzalez de Requena D, Blanco F, Garcia-Benayas T et al. Correlation between lopinavir plasma levels and lipid abnormalities in patients taking lopinavir/ritonavir. *AIDS Patient Care STDS*. 2003;17:443-445
383. Nunez M, Gonzalez-Requena D, Gonzalez-Lahoz J, Soriano V. Short communication: interactions between nevirapine plasma levels, chronic hepatitis C, and the development of liver toxicity in HIV-infected patients. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2003;19:187-188
384. Aceti A, Pasquazzi C, Zechini B, De Bac C. Hepatotoxicity development during antiretroviral therapy containing protease inhibitors in patients with HIV: the role of hepatitis B and C virus infection. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2002;29:41-48
385. Hazra R, Jankelevich S, Mackall CL et al. Immunologic, virologic, and neuropsychologic responses in human immunodeficiency virus-infected children receiving their first highly active antiretroviral therapy regimen. *Viral Immunol*. 2007;20:131-141
386. Persaud D, Ray SC, Kajdas J et al. Slow human immunodeficiency virus type 1 evolution in viral reservoirs in infants treated with effective antiretroviral therapy. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2007;23:381-390

387. Giorgi JV, Liu Z, Hultin LE et al. Elevated levels of CD38+ CD8+ T cells in HIV infection add to the prognostic value of low CD4+ T cell levels: results of 6 years of follow-up. The Los Angeles Center, Multicenter AIDS Cohort Study. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 1993;6:904-912
388. Resino S, Bellon JM, Sanchez-Ramon S et al. CD8+ T-cell numbers predict the response to antiviral therapy in HIV-1-infected children. *Pediatr Res*. 2003;53:309-312
389. Evans TG, Bonne W, Soucier HR et al. Highly active antiretroviral therapy results in a decrease in CD8+ T cell activation and preferential reconstitution of the peripheral CD4+ T cell population with memory rather than naive cells. *Antiviral Res*. 1998;39:163-173
390. Nachman SA, Lindsey JC, Moye J et al. Growth of human immunodeficiency virus-infected children receiving highly active antiretroviral therapy. *Pediatr Infect Dis J*. 2005;24:352-357
391. Verweel G, van Rossum AM, Hartwig NG et al. Treatment with highly active antiretroviral therapy in human immunodeficiency virus type 1-infected children is associated with a sustained effect on growth. *Pediatrics*. 2002;109:E25
392. Guillen S, Ramos JT, Resino R et al. Impact on weight and height with the use of HAART in HIV-infected children. *Pediatr Infect Dis J*. 2007;26:334-338
393. Lucas GM, Chaisson RE, Moore RD. Highly active antiretroviral therapy in a large urban clinic: risk factors for virologic failure and adverse drug reactions. *Ann Intern Med*. 1999;131:81-87
394. King JR, Kimberlin DW, Aldrovandi GM, Acosta EP. Antiretroviral pharmacokinetics in the paediatric population: a review. *Clin Pharmacokinet*. 2002;41:1115-1133
395. Mirochnick M, Nielsen-Saines K, Pilotto JH et al. Nevirapine concentrations in newborns receiving an extended prophylactic regimen. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2008;47:334-337
396. Behrman R, Kliegman R, Jenson H. Principios de farmacoterapia. Nelson. Tratado de Pediatría. 17ª ed: Elsevier, 2004:2428
397. Erkeller-Yuksel FM, Deneys V, Yuksel B et al. Age-related changes in human blood lymphocyte subpopulations. *J Pediatr*. 1992;120:216-222
398. Heldrup J, Kalm O, Prellner K. Blood T and B lymphocyte subpopulations in healthy infants and children. *Acta Paediatr*. 1992;81:125-132
399. Cross SJ, Rodman JH, Lindsey JC et al. Abacavir and Metabolite Pharmacokinetics in HIV-1-Infected Children and Adolescents. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2009
400. Smith CJ, Sabin CA, Youle MS et al. Response to efavirenz-containing regimens in previously antiretroviral-naive HIV-positive patients: the role of gender. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2007;46:62-67
401. Bush CE, Donovan RM, Markowitz N et al. Gender is not a factor in serum human immunodeficiency virus type 1 RNA levels in patients with viremia. *J Clin Microbiol*. 1996;34:970-972
402. Foca M, Moye J, Chu C et al. Gender differences in lymphocyte populations, plasma HIV RNA levels, and disease progression in a cohort of children born to women infected with HIV. *Pediatrics*. 2006;118:146-155

403. Napravnik S, Poole C, Thomas JC, Eron JJ, Jr. Gender difference in HIV RNA levels: a meta-analysis of published studies. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2002;31:11-19
404. Descamps D, Flandre P, Calvez V et al. Mechanisms of virologic failure in previously untreated HIV-infected patients from a trial of induction-maintenance therapy. Trilege (Agence Nationale de Recherches sur le SIDA 072) Study Team). *Jama*. 2000;283:205-211
405. Soldin OP, Elin RJ, Soldin SJ. Therapeutic drug monitoring in human immunodeficiency virus/acquired immunodeficiency syndrome. Quo vadis? *Arch Pathol Lab Med*. 2003;127:102-105
406. Simoni JM, Montgomery A, Martin E et al. Adherence to antiretroviral therapy for pediatric HIV infection: a qualitative systematic review with recommendations for research and clinical management. *Pediatrics*. 2007;119:e1371-1383
407. Gibb DM, Goodall RL, Giacommet V et al. Adherence to prescribed antiretroviral therapy in human immunodeficiency virus-infected children in the PENTA 5 trial. *Pediatr Infect Dis J*. 2003;22:56-62
408. Nabukeera-Barungi N, Kalyesubula I, Kekitiinwa A et al. Adherence to antiretroviral therapy in children attending Mulago Hospital, Kampala. *Ann Trop Paediatr*. 2007;27:123-131
409. Byrne M, Honig J, Jurgrau A et al. Achieving adherence with antiretroviral medications for pediatric HIV disease. *AIDS Read*. 2002;12:151-154, 161-154
410. Boni S, Pontali E, De Gol P et al. Compliance to combination antiretroviral therapy in HIV-1 infected children. *Int J Antimicrob Agents*. 2000;16:371-372
411. Murri R, Ammassari A, Gallicano K et al. Patient-reported nonadherence to HAART is related to protease inhibitor levels. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2000;24:123-128
412. de Requena DG, Nunez M, Gallego O et al. Does an increase in nevirapine plasma levels cause complete virologic suppression in patients experiencing early virologic failure? *HIV Clin Trials*. 2002;3:463-467
413. Reddington C, Cohen J, Baldillo A et al. Adherence to medication regimens among children with human immunodeficiency virus infection. *Pediatr Infect Dis J*. 2000;19:1148-1153
414. Chaix ML, Rouet F, Kouakoussui KA et al. Genotypic human immunodeficiency virus type 1 drug resistance in highly active antiretroviral therapy-treated children in Abidjan, Cote d'Ivoire. *Pediatr Infect Dis J*. 2005;24:1072-1076
415. Maillard A, Chaplain JM, Tribut O et al. The use of drug resistance algorithms and genotypic inhibitory quotient in prediction of lopinavir-ritonavir treatment response in human immunodeficiency virus type 1 protease inhibitor-experienced patients. *J Clin Virol*. 2007;38:131-138
416. Vercauteren J, Vandamme AM. Algorithms for the interpretation of HIV-1 genotypic drug resistance information. *Antiviral Res*. 2006;71:335-342

8. ANEXOS

Anexo 1. Consentimiento informado.**CONSENTIMIENTO INFORMADO**

TÍTULO DEL ESTUDIO: Utilidad de la monitorización de niveles plasmáticos de antirretrovirales en niños.

INTRODUCCIÓN

A usted/su hijo(a) se le está pidiendo que participe de este estudio de investigación. La médica a cargo de este estudio en este sitio clínico es la Dra. Ana Pilar Nso Roca. Antes que usted decida si usted/su hijo(a) quiere tomar parte en este estudio, quisiéramos que conozca sobre el mismo.

Este es un formulario de consentimiento. Le brinda información sobre este estudio. El personal del estudio le hablará sobre esta información. Usted es libre de hacer preguntas en cualquier momento. Si usted accede a que usted/su hijo(a) participe en este estudio, se le pedirá que firme este formulario de consentimiento. Se le dará una copia para que la guarde.

¿POR QUÉ SE ESTÁ HACIENDO ESTE ESTUDIO?

Este estudio monitorizará los niveles plasmáticos de antirretrovirales en niños infectados por el VIH, en la comunidad de Madrid. Se analizarán distintas variables y se evaluará si existe relación significativa entre la concentración plasmática y la respuesta al tratamiento.

El objetivo principal de este estudio es analizar la utilidad de la determinación de los niveles de fármacos antirretrovirales en la práctica clínica habitual, en los niños infectados por el VIH y que reciben tratamiento antirretroviral, para optimizar el tratamiento antirretroviral.

¿QUÉ TENGO QUE HACER SI YO/MI HIJO(A) ESTOY/ESTÁ EN ESTE ESTUDIO?

Su hijo(a) seguirá las revisiones médicas habituales en su centro hospitalario, de forma corriente. Se le realizará un examen físico completo en cada visita y se le efectuarán las analíticas de sangre rutinarias, con la extracción de 1 ml de sangre adicional en el caso de precisar determinación de nivel plasmático de algún fármaco.

¿CUÁNTAS PERSONAS PARTICIPARÁN EN ESTE ESTUDIO?

Alrededor de 130 niños(as) tomarán parte en este estudio.

¿POR CUÁNTO TIEMPO ESTARÉ EN ESTE ESTUDIO?

Usted/su hijo(a) estará en este estudio entre 1 mes y 2 años [máxima cantidad de tiempo], dependiendo de cuándo se incorpore.

¿POR QUÉ EL MÉDICO ME APARTARÍA TEMPRANO DE ESTE ESTUDIO?

La médica del estudio podría tener que apartarlo a usted/su hijo(a) del estudio prematuramente sin su permiso si:

- Usted/su hijo(a) no puede acudir a las visitas del estudio como es requerido por el estudio.

¿CUÁLES SON LOS RIESGOS DEL ESTUDIO?

Dado que este estudio se dedica exclusivamente a observar, no existen riesgos diferentes a los de su seguimiento habitual en su centro hospitalario. La extracción de 1 ml adicional de sangre, no supone ningún riesgo adicional.

¿HAY BENEFICIOS AL TOMAR PARTE EN ESTE ESTUDIO?

Si usted/su hijo(a) participa en este estudio, puede no haber un beneficio directo para usted/su hijo(a), pero la información adquirida en este estudio puede ayudar a otros pacientes que tienen el VIH.

¿QUÉ HAY ACERCA DE LA CONFIDENCIALIDAD?

Para ayudarnos a proteger su privacidad, hemos obtenido un Certificado de Confidencialidad de los investigadores que no podrán revelar información que puede identificarlo(a).

Usted debe entender que un Certificado de Confidencialidad no le impide a usted o a un miembro de su familia dar a conocer voluntariamente información acerca de usted o su participación en este estudio.

¿CUÁL ES EL COSTE PARA MÍ?

En este estudio, no hay costes adicionales para usted/su hijo(a).

¿CUÁLES SON MIS DERECHOS COMO SUJETO DE INVESTIGACIÓN?

El participar en este estudio es completamente voluntario. Usted puede elegir no participar en este estudio o abandonar este estudio/retirar a su niño(a) del estudio en cualquier momento. Usted/su hijo(a) será tratado(a) igual sin importar lo que usted decida.

Nosotros le diremos sobre información nueva de este u otros estudios que podrían afectar la salud, el bienestar de usted/su hijo(a) o su disposición de estar en este estudio. Hágle saber al personal del estudio si usted quiere los resultados de este estudio.

¿QUÉ HAGO SI TENGO PROBLEMAS O PREGUNTAS?

Para preguntas acerca de este estudio contacte a:

- Ana Pilar Nso Roca.
- 917277201.

¿QUÉ TIPO DE INVESTIGACIÓN SERÁ REALIZADA CON LOS DATOS DE MI HIJO(A)?

Para llevar a cabo el estudio, se manejarán datos de la historia clínica de su hijo/(a).

Los datos se almacenarán en una base de datos, respetando la confidencialidad conforme a la Ley Orgánica 15/1999 de Protección de datos y el R.D. 994/99.

PÁGINA DE FIRMAS

Si usted ha leído el consentimiento informado (o se lo han explicado) y entiende toda la información, y desea participar como voluntario para este estudio, por favor firme su nombre en la línea provista más abajo:

Nombre del Participante (Imprenta)

Firma del Participante y Fecha

Guardián Legal del Participante
(Imprenta)

Firma del Guardián Legal y
Fecha

Personal del Estudio que Conduce
la Discusión del Consentimiento
(Imprenta)

Firma del Personal del Estudio
y Fecha

Nombre del Testigo (Imprenta)
(Según sea apropiado)

Firma del Testigo y Fecha

Anexo 2. Formulario de exploración física.

**ESTUDIO PROSPECTIVO DE LA UTILIDAD DE LA MONITORIZACIÓN DE
FÁRMACOS ANTIRRETROVIRALES EN NIÑOS**

FORMULARIO DE EXPLORACIÓN FÍSICA

CENTRO:

CÓDIGO PACIENTE:

FECHA:

PESO		Kg
TALLA		cm
PERÍMETRO CEFÁLICO		cm

PRESENTA SIGNOS DE LIPODISTROFIA:

<input type="checkbox"/> SI	GRADO:	LEVE	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> NO
		MODERADO	<input type="checkbox"/>	
		SEVERO	<input type="checkbox"/>	
	TIPO:	LIPOATROFIA	<input type="checkbox"/>	
		LIPOHIPERTROFIA	<input type="checkbox"/>	
		MIXTA	<input type="checkbox"/>	

EXPLORACIÓN FÍSICA:

ESTADIO DE TANNER: _____

¿HA EXISTIDO ALGÚN PROBLEMA RELEVANTE TRAS LA ÚLTIMA VISITA?:

¿HA PRESENTADO ALGUN EFECTO SECUNDARIO A LA MEDICACIÓN?:

VALORACIÓN DE LA ADHERENCIA:

Anexo 3. Informe sobre el resultado de la determinación plasmática.**ESTUDIO PROSPECTIVO DE LA UTILIDAD DE LA MONITORIZACIÓN DE
FÁRMACOS ANTIRRETROVIRALES EN NIÑOS**

El paciente _____

Tiene, a fecha _____ unos niveles de medicación (ng/ml) de:

Saquinavir	
Nelfinavir	
Efavirenz	
Nevirapina	
Amprenavir	
Lopinavir	
Ritonavir	
Atazanavir	
Indinavir	
Tipranavir	
Darunavir	
Fosamprenavir	

Lo que corresponde a un valor valle:

-Adecuado de: _____

-Infraterapéutico de: _____

-Tóxico de: _____

Si tras recibir este resultado valora modificar la dosis, por favor póngase en contacto con el equipo investigador para reenviar una nueva muestra al mes.

Anexo 4. Cuestionario para los facultativos, acerca de la utilidad de la medición de concentraciones plasmáticas de ARV.

CUESTIONARIO UTILIDAD DEL PROYECTO

1. ¿Qué actitud toma ante niveles bajos?
 - Aumento la dosis del fármaco. ☐
 - Sólo aumento dosis si hay signos de no respuesta al tratamiento. ☐
 - No modifico la dosis. ☐
 - Otros _____ ☐
2. ¿Qué actitud toma ante niveles altos?
 - Disminuyo la dosis del fármaco. ☐
 - Sólo disminuyo dosis si hay signos de toxicidad. ☐
 - No modifico la dosis. ☐
 - Otros _____ ☐
3. ¿Qué actitud toma ante niveles normales pero alteración clínica o analítica?
 - Disminuyo dosis si hay signos de toxicidad. ☐
 - Aumento dosis si hay signos de no respuesta al tratamiento. ☐
 - Ambas. ☐
 - Nada. ☐
 - Otros _____ ☐
4. ¿Sigue algún control de la adherencia?
 - Sí ☐ Diga cuál: _____
 - No ☐
5. ¿Ayuda la determinación de niveles para controlar la adherencia?
 - Sí ☐
 - No ☐
6. ¿Considera que la determinación de niveles ayuda a que el paciente tenga mejor adherencia?
 - Sí ☐
 - No ☐
7. ¿Suelen relacionarse los niveles altos con la toxicidad clínica o analítica?
 - No, nunca ☐

- Casi nunca ☐
- La mayoría de veces ☐
- Sí, siempre ☐

8. ¿Sirve de ayuda nuestra recomendación a la hora de modificar dosis?

- Sí ☐
- No ☐

9. ¿Cómo valora la determinación rutinaria de niveles de antirretrovirales?

- ☐ Es útil y beneficiosa para el manejo terapéutico y el control de la adherencia
- ☐ Sólo es útil para el control de la adherencia
- ☐ No resulta útil
- ☐ Otros _____

Anexo 5. Hoja de recogida de datos.

<p><u>HOJA DE RECOGIDA DE DATOS</u></p> <p>1. <u>Datos del centro</u></p> <p>Centro donde se realiza el estudio: _____</p> <p>Responsable: Dr/Dra: _____</p> <p>Fecha muestra: / / ...</p> <p>2. <u>Datos del sujeto</u></p> <p>Iniciales y código del sujeto: _____</p> <p>Peso: _____ Kg</p> <p>Tratamiento antirretroviral completo (fármaco, dosis e intervalo):</p> <ul style="list-style-type: none"> • _____ • _____ • _____ <p>Otros tratamientos concomitantes (si existen):</p> <p>_____</p> <p>_____</p> <p>_____</p> <p>_____</p> <p>3. <u>Extracciones</u></p> <p>Fecha de toma de la medicación: / /</p>	<div style="border: 1px solid black; padding: 5px; margin-bottom: 10px;"> Petición nº: ##### </div>
--	---

Fármaco y hora de la toma	Hora extracción	Identificación muestra
----- ----- ----- ----- -----	----- ----- ----- ----- -----	

Anexo 6. Cuestionario para medición de la adherencia al tratamiento.**CUESTIONARIO DE ADHERENCIA**

Iniciales y código del paciente _____

Fecha ____ / ____ / ____

Tratamiento antirretroviral completo (fármaco, dosis e intervalo):

¿Quién administra la medicación al paciente? ☐ Padre/madre
☐ Paciente
☐ Otros _____

Tiene problemas con alguno de los fármacos ☐ NO
☐ SI. Diga cuál _____

Olvida tomar la medicación:

- ☐ Nunca
- ☐ Ocasionalmente
- ☐ Frecuentemente
- ☐ Casi siempre

¿Se ha saltado alguna dosis en la última semana? ☐ SI ☐ NO
¿Cuántas dosis? _____
¿Cuándo? _____

9. ARTÍCULOS PUBLICADOS Y COMUNICACIONES

Como resultado de la realización de este estudio, se han realizado las siguientes publicaciones y comunicaciones científicas:

1. **Nso AP**, Larrú B, Bellón JM, Mellado MJ, Ramos JT, González MI, Navarro ML, Muñoz-Fernández MA, De José MI. Niveles plasmáticos de antirretrovirales en niños con infección por VIH. Influencia del género y la edad. **Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica** 2009. Enviado.
2. **Nso AP**, Larrú B, Bellón JM, Mellado MJ, Ramos JT, González MI, Navarro ML, Muñoz-Fernández MA, De José MI. Therapeutic drug monitoring in HIV-infected children: high prevalence of low antiretroviral plasma concentrations. **Indian Journal of Pediatrics** 2009. En prensa.
3. **Nso AP**, Larrú B, Del Rosal T, Bellón JM, Mellado MJ, Ramos JT, González MI, Navarro ML, Muñoz-Fernández MA, De José MI. HAART adherence and time to reach adequate antiretroviral plasma levels in children. **Pediatric Infectious Diseases Journal** 2009. Enviado.
4. **Nso AP**, Larrú B, Bellón JM, Mellado MJ, Ramos JT, González MI, Navarro ML, Muñoz-Fernández MA, De José MI. Alta prevalencia de concentraciones plasmáticas inadecuadas de antirretrovirales en niños con infección por VIH. Resultados de un estudio multicéntrico. Comunicación oral. **58º Congreso de la Asociación Española de Pediatría**. Zaragoza 4-6 de Junio de 2009.
5. **Nso AP**, Larrú B, Bellón JM, Mellado MJ, Ramos JT, González MI, Navarro ML, Muñoz-Fernández MA, De José MI. Monitoring of antiretroviral therapy in HIV-infected children. Results of a multicentre study in Spain. Poster. **27th Annual Meeting of the European Society for Paediatric Infectious Diseases**. Bruselas 9-13 de Junio de 2009.
6. **Nso AP**, Larrú B, González MI, Bellón JM, Mellado MJ, Ramos JT, Navarro ML, Muñoz-Fernández MA, De José MI. Asociación entre niveles plasmáticos elevados de atazanavir y efectos secundarios en niños. **XII Congreso Nacional sobre el SIDA**. Valencia 20-22 de Mayo de 2009.

